PGS. TS. NGUYỄN NHU HIỀN

GIÁO TRÌNH

SINH HỌC TẾ BÀO

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

PGS.TS. NGUYỄN NHƯ HIỀN

GIÁO TRÌNH
SINH HỌC TẾ BÀO

(Dùng cho sinh viên Cao đẳng, Đại học chuyên ngành Sinh học,
Công nghệ sinh học, Nông – Lâm – Ngư nghiệp
và Giáo viên Sinh học phổ thông)

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

155-2006/CXB/5-250/GD

Mã số: 7K675M6–DAI

LỜI NÓI ĐẦU

Sinh học tế bào là một trong những giáo trình cơ bản của chương trình đào tạo Cao đẳng và Đại học cho các sinh viên chuyên ngành về Khoa học sự sống.

Giáo trình giới thiệu những kiến thức cơ bản và hiện đại về cấu trúc và chức năng của tế bào - đơn vị tổ chức cơ bản của cơ thể sống, trên nguyên tắc cấu trúc luôn liên hệ với chức năng, cấu trúc chức năng luôn liên hệ với môi trường sống. Trên cơ sở kiến thức về tổ chức đại phân tử và siêu cấu trúc của các bào quan, về các quá trình hoạt động sống như chuyển hóa vật chất và năng lượng, quá trình tích và truyền thông tin di truyền, quá trình sinh trưởng và sinh sản của tế bào trong cơ thể đơn bào cũng như đa bào, sinh viên có thể dễ dàng học tập, nghiên cứu các giáo trình sinh học cơ bản khác như Sinh học phát triển, Sinh lý học thực vật, Sinh lý học động vật, Di truyền học, Hóa sinh học, Sinh học phân tử, Vi sinh vật học..., cũng như các giáo trình chuyên ngành như Di truyền tế bào, Di truyền y học, Di truyền chọn giống vật nuôi và cây trồng, Công nghệ sinh học...

Giáo trình có thể dùng làm tài liệu học tập cho sinh viên các Trường Cao đẳng và Đại học, đồng thời có thể dùng làm tài liệu tham khảo cho các giáo viên và học sinh Trung học phổ thông về kiến thức sinh học tế bào được dạy ở lớp 10.

Giáo trình gồm 4 phần:

Phần *Mở đầu*: Giới thiệu khái quát về thế giới sống và tế bào - đơn vị tổ chức cơ bản của cơ thể sống, về các kiến thức tế bào học được áp dụng trong Công nghệ sinh học.

Phần I. Tổ chức phân tử của tế bào: Giới thiệu về thành phần hóa học của tế bào, về các chất vô cơ và hữu cơ cấu tạo nên tế bào và các bào quan, đặc biệt giới thiệu đặc tính và vai trò của nước, đặc tính và vai trò của các đại phân tử (protein và axit nucleic), đặc tính và vai trò của các liên kết yếu.

Phần II. Cấu trúc và chức năng của tế bào nhân sơ và tế bào nhân chuẩn: Giới thiệu cấu trúc của tế bào nhân sơ, đặc biệt là tế bào nhân chuẩn. Giới thiệu cấu trúc phân tử và siêu vi của các bào quan cùng chức năng và tiến hóa của chúng như màng sinh chất, mạng lưới nội chất, riboxom, ty thể, lục lạp, phức hệ golgi, lizoxom, peroxixom, trung thể, bộ khung xương tế bào, nhân tế bào với màng nhân, nhiễm sắc thể và hạch nhân.

Phần III. Chuyển hóa vật chất và năng lượng: Giới thiệu về enzim và vai trò của enzim, về các phương thức chuyển hóa năng lượng trong tế bào như hô hấp tế bào, hóa tổng hợp và quang hợp.

Phần IV. Chu kỳ tế bào và sinh sản tế bào: Giới thiệu về chu kỳ tế bào và cơ chế điều chỉnh chu kỳ về phân bào nguyên nhiễm và phân bào giảm nhiễm.

Cuối mỗi chương giới thiệu một số bài tập trắc nghiệm với mục đích giúp học viên ôn tập kiến thức cơ bản nhất của chương.

Tuy sách được biên soạn với kinh nghiệm gần 40 năm giảng dạy môn Sinh học tế bào của tác giả, nhưng không thể tránh khỏi một số sai sót. Tác giả mong nhận được ý kiến đóng góp của độc giả để giáo trình ngày càng hoàn thiện. Mọi ý kiến xin gửi về: Công ty Cổ phần Sách Đại học - Dạy nghề, Nhà xuất bản Giáo dục, 25 Hàn Thuyên - Hà Nội.

TÁC GIẢ

MỤC LỤC

Lời nói đầu 3

Phần mở đầu

ĐỐI TƯỢNG, NHIỆM VỤ CỦA SINH HỌC TẾ BÀO

I - Khái quát về hệ thống sống 7
II- Đối tượng, nhiệm vụ, lược sử và phát triển của Sinh học tế bào 11
III- Phương pháp nghiên cứu trong Sinh học tế bào 13
IV- Sinh học tế bào với sản xuất và đời sống 14

Phần I. TỔ CHỨC PHÂN TỬ CỦA TẾ BÀO

Chương I. Thành phần hóa học của tế bào 25
A- Các chất vô cơ trong tế bào 25
I- Thành phần nguyên tố của tế bào 25
II- Các chất vô cơ 26
B- Các chất hữu cơ trong tế bào 31
I- Cacbohydrat (gluxit) 31
II- Lipit 34
III- Protein 34
IV- Axit nucleic 41
C- Liên kết hóa học và vai trò của chúng trong cơ thể sống 44
I- Đặc điểm của các liên kết hoá học 46
II- Vai trò của các liên kết hoá học 47

Phần II. CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA TẾ BÀO

Chương II. Tế bào nhân sơ và tế bào nhân chuẩn 47
I- Hai dạng tồn tại của tế bào 49
II- Tế bào vi khuẩn 48
III- Tế bào nhân chuẩn 54
Chương III. Cấu trúc và chức năng của màng sinh chất 56
I- Khái niệm về màng sinh chất 58
II- Mô hình phân tử của màng sinh chất 59
III- Chức năng của màng sinh chất 65
Chương IV. Tế bào chất và các bào quan 76
I- Khái niệm về tế bào chất và bào quan 79
II- Ty thể 78
III- Lục lạp 87
IV- Mạng lưới nội chất 89
V- Riboxom 97
VI- Phức hệ golgi 97
VII- Lizoxom 106

VIII- Peroxixom 110
IX- Glioxixom 111
X- Bộ xương tế bào: vi sợi và vi ống 111
XI. Trung thể 118
XII- Lông và roi 120
XIII- Không bào 122
Chương V. Nhân tế bào 124
I- Cấu trúc nhân gian kỳ 127
II- Màng nhân 131
III- Chất nhiễm sắc (chromatine) và nhiễm sắc thể (chromosome) 135
IV- Hạch nhân 171
V- Dịch nhân 173
VI- Giá trị chức năng của nhân 174

Phần III. CHUYỂN HOÁ VẬT CHẤT VÀ NĂNG LƯỢNG Ở TẾ BÀO
Chương VI. Năng lượng và chuyển hoá năng lượng ở tế bào 175
I. Khái niệm năng lượng 175
II- Sự sử dụng năng lượng của tế bào 181
III- Chuyển hóa vật chất trong tế bào 183
IV- Enzim - Chất xúc tác sinh học 184
Chương VII. Các phương thức chuyển hoá năng lượng ở tế bào 193
A- Hô hấp tế bào 193
I- Ba giai đoạn hô hấp tế bào. Phân giải glucozơ 198
II- Phân giải lipit, protein và axit nucleic 205
B- Hoá tổng hợp 201
I- Khái quát về hoá tổng hợp 206
II- Các nhóm vi khuẩn hoá tổng hợp 207
C- Quang hợp 203
I- Khái niệm về quang hợp 208
II- Sắc tố quang hợp và lục lạp 208
III- Các pha của quang hợp 209
IV-Tiến hóa của quang hợp 216
V- Các nhân tố ảnh hưởng đến quang hợp 216
VI- Vai trò của quang hợp đối với hệ sinh thái và con người 217

Phần IV. CHU KỲ TẾ BÀO VÀ SỰ SINH SẢN CỦA TẾ BÀO
Chương VIII. Chu kỳ tế bào 213
I- Các thời kỳ của chu kỳ tế bào 218
II- Sự điều chỉnh chu kỳ tế bào 222
Chương IX. Sự phân bào 235
I- Phân bào ở tế bào nhân sơ và tế bào nhân chuẩn 240
II- Phân bào nguyên nhiễm 242
III- Phân bào giảm nhiễm 248
III- So sánh phân bào giảm nhiễm và phân bào nguyên nhiễm 256
Tài liệu tham khảo 259

Phần mở đầu

ĐỐI TƯỢNG, NHIỆM VỤ CỦA SINH HỌC TẾ BÀO

I - KHÁI QUÁT VỀ HỆ THỐNG SỐNG

1.1. Hệ thống sống là hệ thống mở

Hệ thống sống dù đó là tế bào, cơ thể, quần thể hay quần xã là những hệ thống mở, có nghĩa là hệ luôn trao đổi vật chất, năng lượng và thông tin với môi trường. Đứng về phương diện nhiệt động học, trong một hệ thống mở, *entropi* có xu thế giảm (năng lượng có ích sẽ tăng), độ trật tự của hệ được tăng cao (tổ chức càng phức tạp và ổn định), lượng thông tin của hệ càng gia tăng (phản ứng và thích nghi với môi trường sống). Cũng vì vậy mà hệ thống sống tồn tại và phát triển.

Trái lại hệ vô cơ là hệ kín, *entropi* có xu thế gia tăng, độ trật tự giảm, lượng thông tin giảm và cuối cùng hệ sẽ tan rã.

(Entropi là đại lượng để chỉ độ vô trật tự hay năng lượng vô ích của hệ thống).

1.2. Hệ thống sống là hệ có tổ chức theo cấp bậc lệ thuộc

Một trong những đặc điểm nổi bật của hệ thống sống là có tổ chức phức tạp gồm nhiều cấp lệ thuộc nhau và tương quan với môi trường sống. Người ta thường chia hệ thống sống thành các *cấp tổ chức chính* từ thấp đến cao như: tế bào, cơ thể, quần thể - loài, quần xã, hệ sinh thái - sinh quyển.

Trong mỗi cấp chính có các cấp phụ. Tế bào gồm các cấp phụ như: phân tử, đại phân tử, bào quan. Cơ thể gồm các cấp phụ như: mô, cơ quan, hệ thống cơ quan. Các cấp tổ chức chính là cấp tổ chức tồn tại độc lập như một đơn vị sống, còn cấp phụ chỉ tồn tại phụ thuộc vào *cấp tổ chức chính*. Đại phân tử, bào quan chỉ tồn tại trong tế bào. Mô, cơ quan, hệ cơ quan chỉ có thể tồn tại trong cơ thể.

Trong mỗi cấp tổ chức đều thể hiện mối tương quan mật thiết giữa cấu tạo với chức năng sinh lý, giữa cấu tạo và chức năng với môi

trường sống. Các cấp tổ chức của thế giới sống được xuất hiện và phát triển từ thấp đến cao, từ đơn giản đến phức tạp trong quá trình tiến hóa của sự sống theo thời gian và không gian.

1.3. Tế bào - đơn vị tổ chức cơ bản của sự sống

a) Học thuyết tế bào

Tế bào được nhà khoa học người Anh Robert Hooke phát hiện lần đầu tiên vào năm 1665 khi nghiên cứu lát cắt mô bần (mô thực vật bị bần hóa và đã chết) dưới kính hiển vi có độ phóng đại 30 lần. Ông quan sát thấy mô bần được cấu tạo gồm rất nhiều ô rỗng có thành bao quanh xếp cạnh nhau giống như tổ ong và ông gọi chúng là *cellulae* (*cellulae* - tiếng La tinh có nghĩa là xoang rỗng hoặc *tế bào*, tế bào là tiếng Hán, *tế* có nghĩa là rỗng, *bào* là xoang). Tế bào bần là tế bào thực vật đã chết hóa bần, chỉ còn lại thành xenlulozơ hóa bần nên có dạng xoang rỗng. Về sau, với sự phát triển của kính hiển vi có độ phóng đại lớn hơn, nhiều nhà sinh học đã phát hiện được nhiều loại tế bào vi sinh vật, thực vật, động vật khác nhau và thấy tế bào không phải là xoang rỗng mà có cấu tạo phức tạp. Đặc biệt là Antonie Van Leeuwenhoek vào những năm 1674-1683 đã phát hiện nhiều loại tế bào khác nhau như động vật đơn bào, tế bào máu, tinh trùng... và thấy chúng đều có cấu tạo rất phức tạp không phải là chiếc xoang rỗng. Nhưng vì lý do lịch sử nên vẫn dùng thuật ngữ tế bào (xoang rỗng) để gọi chúng, mặc dù chúng đều có cấu tạo rất phức tạp gồm màng sinh chất, tế bào chất chứa nhiều bào quan và nhân như chúng ta đã biết ngày nay.

Mãi đến thế kỷ XIX, nhờ sự hoàn thiện kính hiển vi, nhà thực vật học M. Schleiden và nhà động vật học T. Schwann đã tổng kết các thành tựu nghiên cứu về tế bào của nhiều nhà nghiên cứu trước đấy, và vào năm 1838 - 1839 đề xuất học thuyết tế bào: *Tất cả vi sinh vật, thực vật cũng như động vật đều có cấu tạo tế bào.* Học thuyết tế bào đã chứng minh rằng, thế giới sống tuy rất đa dạng nhưng có tính thống nhất, có nguồn gốc chung vì đều có cấu tạo tế bào.

Ngày nay dưới ánh sáng của sinh học hiện đại, học thuyết tế bào vẫn giữ nguyên giá trị của nó và tế bào được xem là đơn vị tổ chức cơ bản của thế giới sống cả về cấu tạo, chức năng sinh lý và di truyền theo 3 nguyên lý sau:

1) Tế bào là đơn vị sống bé nhất, đơn vị tổ chức cơ bản của tất cả các cơ thể sống.

2) Tất cả cơ thể sống được cấu tạo gồm một tế bào hoặc nhiều tế bào. Các quá trình trao đổi chất và di truyền đều diễn ra trong tế bào.

3) Tế bào được sinh ra từ tế bào có trước. Mặc dù tế bào nguyên thủy được hình thành tự sinh ngẫu nhiên trong môi trường của Trái Đất cách đây khoảng 3,5 tỷ năm, nhưng hiện nay tế bào không có khả năng tự sinh ngẫu nhiên mà tế bào chỉ được sinh ra từ tế bào có sẵn (Omnis cellulae e cellulae) như R.Virchov đã khẳng định từ những năm 1858, và tất cả tế bào tồn tại trong tất cả các cơ thể hiện nay chỉ là hậu duệ của tế bào nguyên thủy đó.

Công nhận tế bào là cấp tổ chức cơ bản của cơ thể sống có nghĩa là trong quá trình xuất hiện và tiến hóa của sự sống, chỉ ở giai đoạn xuất hiện tế bào thì sự sống mới biểu hiện đầy đủ với các đặc tính như trao đổi chất, sinh trưởng phát triển, sinh sản, cảm ứng và thích nghi với môi trường sống. Tất cả hoạt động sống đều diễn ra trong tế bào dù là ở cơ thể đơn bào hay đa bào.

b) Tế bào được cấu tạo gồm các phân tử, đại phân tử, bào quan tạo nên 3 thành phần cơ bản là: màng sinh chất, tế bào chất và nhân. Các đại phân tử và bào quan chỉ thực hiện được chức năng sống với mối quan hệ tương tác lẫn nhau trong tổ chức tế bào toàn vẹn.

Người ta phân biệt 2 dạng tế bào cấu tạo nên tất cả các cơ thể sống: tế bào nhân sơ (Procaryota) và tế bào nhân chuẩn (Eucaryota).

Các phân tử có trong tế bào là các chất vô cơ như các muối vô cơ, nước và các chất hữu cơ. Các chất hữu cơ bé (đơn phân) tập hợp tạo thành các đại phân tử (trùng hợp).

Các chất đại phân tử (macromolecule): chủ yếu là protein và axit nucleic là các chất trùng hợp (hay chất đa phân: polimer gồm nhiều đơn phân - monomer) có vai trò quyết định sự sống của tế bào, nhưng chúng chỉ thực hiện được chức năng của mình trong tổ chức tế bào. Các phân tử và đại phân tử tập hợp lại tạo nên các bào quan.

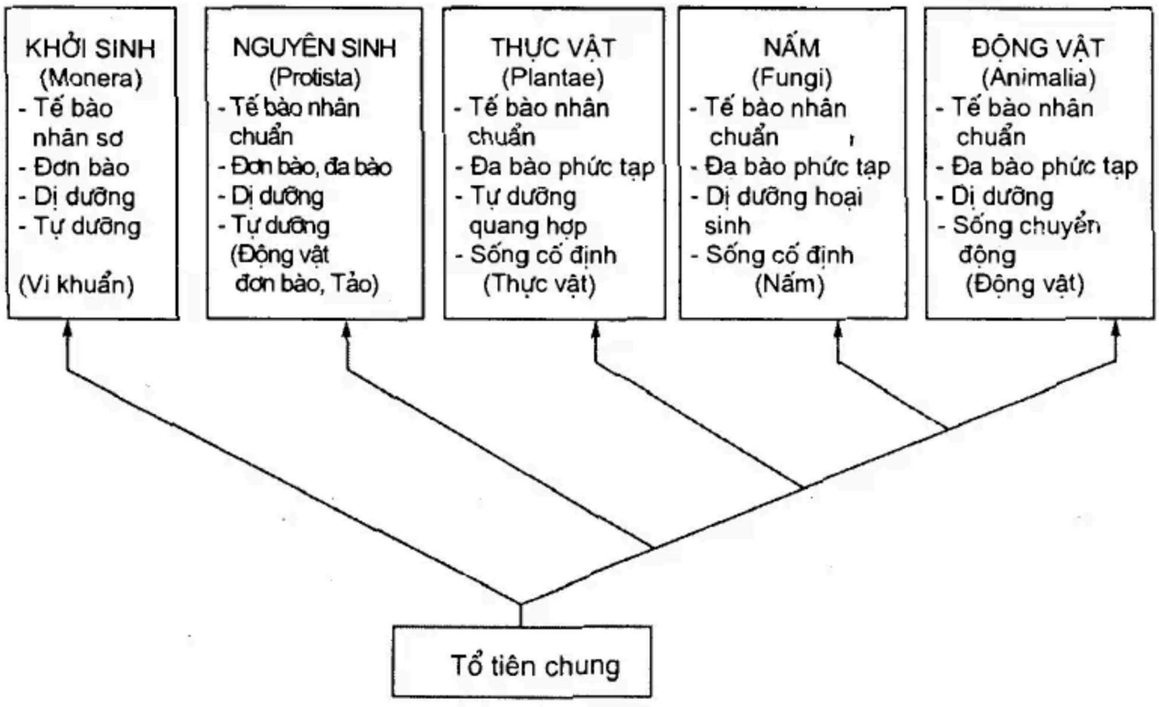
Bào quan (organella - cơ quan nhỏ, hay là organoid - tương tự cơ quan) là cấu trúc gồm các đại phân tử và phức hợp trên phân tử có chức năng nhất định trong tế bào. Ví dụ, riboxom gồm rARN và protein có chức năng là nơi tổng hợp protein. Ty thể gồm các photpholipit, protein... có chức năng là trạm năng lượng. Nhân gồm màng nhân, nhân con, nhiễm sắc thể. Nhiễm sắc thể gồm ADN và protein có chức năng chứa thông tin di truyền. Nhân con gồm ADN, ARN và protein là nơi tổng hợp, dự trữ riboxom...

1.4. Đa dạng sinh vật. Các giới sinh vật

Hệ thống sống vô cùng đa dạng. Hiện nay người ta đã thống kê và mô tả, đặt tên khoảng 1,8 triệu loài sinh vật và hàng năm các nhà khoa học phát hiện thêm hàng nghìn loài. Người ta ước tính rằng số loài sinh vật trên Trái Đất có thể đạt tới con số 30 triệu loài.

Để có thể nghiên cứu được sự đa dạng sinh vật, ông tổ của ngành phân loại học Carl Linne từ năm 1735 đã sắp xếp các sinh vật vào bậc phân loại: loài (species) - chi (genus) - họ (family) - bộ (order) - lớp (class) - ngành (phylum) - giới (regnum). Ông đã đề nghị danh pháp nhị phân (binominal) để đặt tên loài, theo đó, tên thứ nhất là *chi* và tên thứ hai là *loài*, ví dụ, *loài người* là *Homo sapiens*. Loài người được xếp vào chi Người (Homo), họ Người (Homonidae), bộ Linh trưởng (Primates), lớp Động vật có vú (Mammalia), ngành Có dây sống (Chordata), giới Động vật (Animalia). Ông đã phân loại tất cả sinh vật biết thời đó vào hai giới là giới Thực vật (Plantae) và giới Động vật (Animalia).

Từ năm 1969, nhà sinh thái học Mỹ R. H. Wittaker căn cứ vào các đặc điểm cấu tạo cơ thể, phương thức dinh dưỡng, đề nghị hệ thống 5 giới sinh vật (sơ đồ hình 1):



Hình 1. *Sơ đồ phân loại sinh vật theo 5 giới*

1) Giới Khởi sinh (Monera) gồm vi khuẩn, vi khuẩn lam.

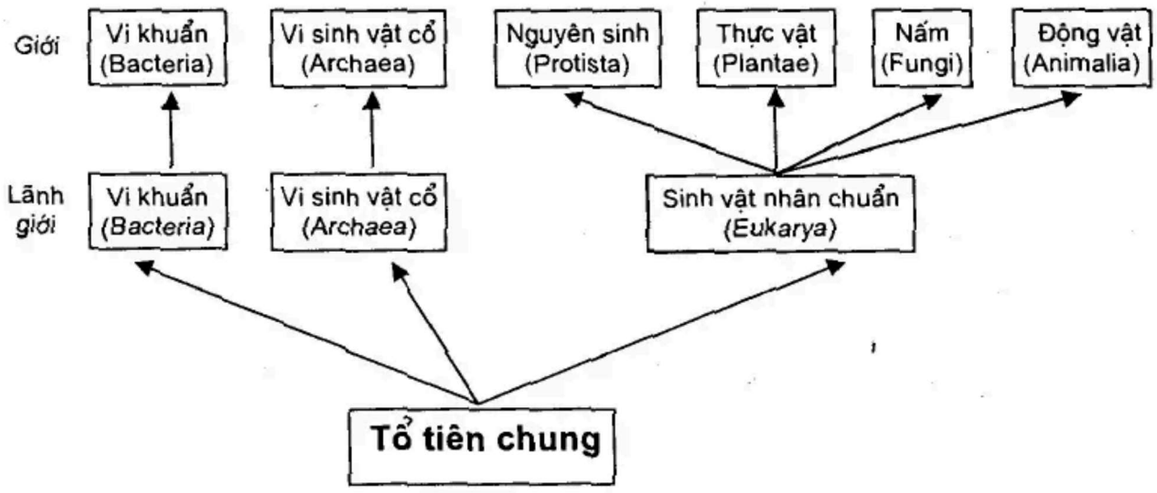
2) Giới Nguyên sinh (Protista) gồm Động vật đơn bào và Tảo.

3) Giới Nấm (Fungi).

4) Giới Thực vật (Plantae).

5) Giới Động vật (Animalia).

Những năm gần đây, dưới ánh sáng của sinh học phân tử, căn cứ vào sự khác nhau ở hệ gen và cấu trúc thành tế bào, người ta đã đề nghị một hệ thống phân loại gồm 3 Lãnh giới (Domain) trong đó tách giới Monera thành 2 Lãnh giới riêng là Lãnh giới Vi sinh vật cổ (Archaea) gồm 1 giới Vi sinh vật cổ, và Lãnh giới Vi khuẩn (Bacteria) gồm 1 giới Vi khuẩn. Lãnh giới thứ ba là Lãnh giới Sinh vật nhân chuẩn (Eukarya) gồm 4 giới (Nguyên sinh, Nấm, Thực vật, Động vật). Về mặt tiến hóa thì giới Vi sinh vật cổ gần với Sinh vật nhân chuẩn hơn là Vi khuẩn (sơ đồ hình 2).



Hình 2. Sơ đồ phân loại theo 3 Lãnh giới

II- ĐỐI TƯỢNG, NHIỆM VỤ, LƯỢC SỬ VÀ PHÁT TRIỂN CỦA SINH HỌC TẾ BÀO

2.1. Đối tượng và nhiệm vụ của Sinh học tế bào

Sinh học tế bào được xem là một trong những môn cơ bản của Khoa học về sự sống. Sinh học tế bào có đối tượng nghiên cứu là *tế bào - đơn vị tổ chức cơ bản của cơ thể sống về cấu trúc và chức năng cũng như di truyền*. Sinh học tế bào nghiên cứu mối tương quan giữa

cấu tạo và chức năng trong hoạt động sống của tế bào và cơ thể; nghiên cứu cơ sở phân tử và tế bào của hiện tượng di truyền, biến dị và tiến hóa, của sự sinh trưởng, phát triển và sinh sản của cơ thể; nghiên cứu mối tương quan giữa tế bào, cơ thể với môi trường sống.

Các kiến thức về sinh học tế bào được ứng dụng trong y dược học để phòng chống các bệnh nhiễm trùng, bệnh di truyền..., trong nông, lâm, ngư nghiệp để tạo giống mới, tăng năng suất cây trồng, vật nuôi..., trong công nghệ thực phẩm, công nghệ môi trường... Sinh học phân tử và Sinh học tế bào là cơ sở khoa học của *Công nghệ sinh học hiện đại*, một trong những ngành công nghệ mũi nhọn của nền kinh tế trí thức của thế kỷ XXI.

2.2. Lược sử ra đời và phát triển của Sinh học tế bào

Sự sử dụng kính hiển vi để nghiên cứu các sinh vật, phát hiện ra tế bào và xây dựng học thuyết tế bào vào những năm 1838 - 1839 đã khai sinh ra *Tế bào học* (Cytology). F. Engels đã từng đánh giá học thuyết tế bào là một trong ba phát kiến vĩ đại của thế kỷ XIX (cùng với học thuyết tiến hóa của Darwin và thuyết bảo tồn năng lượng). Học thuyết tế bào đã gây ảnh hưởng to lớn đối với các chuyên ngành sinh học và từ đó hình thành các chuyên ngành mới như giải phẫu hiển vi, sinh lý tế bào, di truyền tế bào, bệnh học tế bào... Một dẫn chứng rõ ràng nhất là các quy luật của Mendel được phát hiện từ năm 1865 nhưng chưa được công nhận vì chưa có,cơ sở tế bào. Các cơ sở tế bào của các quy luật Mendel như cấu trúc nhiễm sắc thể của tế bào, hiện tượng phân bào nguyên nhiễm, phân bào giảm nhiễm, thụ tinh cũng như các tập tính của nhiễm sắc thể qua phân bào và thụ tinh chỉ được phát hiện sau thời Mendel từ năm 1870 - 1890. Vì vậy vào năm 1900, quy luật Mendel được "tái phát hiện" bởi ba nhà nghiên cứu là De Vries, Corens và Tchermark đã được công nhận rộng rãi vì đã có cơ sở tế bào học của nó.

Sang thế kỷ XX, Tế bào học phát triển nhanh chóng không chỉ nhờ ứng dụng các phương pháp hiện đại như ly tâm siêu tốc, kính hiển vi điện tử, nuôi cấy tế bào... mà còn nhờ sự tích hợp giữa Tế bào học với Di truyền học, Sinh học phân tử, Sinh học phát triển, Miễn dịch học để ra đời các chuyên ngành trung gian như Di truyền tế bào, Tế bào học phân tử, Miễn dịch học tế bào... mà bản thân Tế bào học trước đây chỉ bó hẹp nghiên cứu cấu trúc của tế bào thì nay cũng

được mở rộng nghiên cứu các lĩnh vực sinh lý, di truyền, tiến hóa và đi sâu vào cơ chế phân tử của tế bào, của các cấu trúc tế bào và được gọi là *Sinh học tế bào* (Cell Biology).

III- PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU TRONG SINH HỌC TẾ BÀO

Cũng giống như các chuyên ngành sinh học khác, Sinh học tế bào đạt được nhiều thành tựu to lớn là nhờ có sự ứng dụng các kỹ thuật mới trong phương pháp nghiên cứu (kỹ thuật hiển vi, hóa tế bào, nuôi cấy tế bào...) cũng như dựa trên các tư duy lý luận khoa học và khách quan (học thuyết tế bào, học thuyết tiến hóa, học thuyết nhiễm sắc thể, học thuyết gen, học thuyết hệ thống...). Chúng ta xem xét một số kỹ thuật chủ yếu được ứng dụng trong nghiên cứu tế bào.

3.1. Kỹ thuật hiển vi

Năm 1665 R. Hooke sử dụng kính hiển vi với độ phóng đại 30 lần đã phát hiện ra cấu trúc tế bào của mô bần thực vật. H. V. Leewenhoek đã cải tiến kính hiển vi với độ phóng đại 300 lần đã phát kiến nhiều dạng tế bào như đơn bào (amip, trùng lông...), hồng cầu, tinh trùng người, vi khuẩn... Từ những năm 1828, với sự tiến bộ trong công nghệ chế tạo kính hiển vi đã nâng cao độ phóng đại của kính hiển vi lên hàng nghìn lần, các nhà khoa học đã phát hiện nhiều dạng tế bào trong mô thực vật, động vật cũng như các cấu trúc của tế bào và đến năm 1838 - 1839 đã ra đời học thuyết tế bào, được xem như năm khai sinh ra chuyên ngành Tế bào học. Trong suốt nửa sau của thế kỷ XIX nhờ sự tiến bộ của kỹ thuật hiển vi nâng cao độ phóng đại, sử dụng các kỹ thuật hiển vi khác nhau như hiển vi đối pha, hiển vi nền đen, ứng dụng kỹ thuật vi cắt làm tiêu bản nhuộm màu, các nhà nghiên cứu đã phát hiện nhiều bào quan của tế bào thực vật và động vật (ty thể, lạp thể, phức hệ golgi, hạch nhân, nhiễm sắc thể...), cấu trúc hiển vi của các mô khác nhau, cũng như phát hiện nhiều quá trình hoạt động sống trong tế bào và mô (sự thẩm thấu qua màng, sự phân bào và sinh sản của tế bào, sự sinh trưởng và phát triển của mô và cơ quan, ...). Đến thế kỷ XX, nhờ kết hợp các kỹ thuật lý hóa như ly tâm siêu tốc, điện di, sắc ký, hóa tế bào và đặc biệt là kỹ thuật hiển vi điện tử, các nhà tế bào học đã phát hiện cấu trúc phân tử và đại phân tử của các bào quan như ty thể, lục lạp, phức hệ golgi, nhiễm sắc thể, hạch nhân, trung thể, màng sinh chất, đồng thời phát hiện nhiều bào

quan mới có chức năng rất quan trọng như riboxom, lizoxom, peroxixom, mạng lưới nội chất cũng như cơ chế phân tử trong hoạt động sống của chúng ở mức độ tế bào, mức độ phân tử.

3.2. Kỹ thuật nuôi cấy tế bào

Để nghiên cứu tế bào, người ta phải làm tiêu bản hiển vi, nghĩa là tế bào (hoặc mô) được xử lý định hình (bằng hóa chất như formol, cồn...) để chúng không bị phân rã, sau đó mẫu vật được đúc vào khối paraphin để cắt thành lát mỏng bằng máy vi cắt (với độ mỏng vài micromet) và làm tiêu bản, tiêu bản được xử lý làm sạch paraphin và được nhuộm màu để làm xuất hiện các cấu trúc khác nhau trong tế bào và mô. Quan sát tiêu bản cố định như vậy, người ta chỉ có thể biết được cấu trúc chết của tế bào, không thể biết được hoạt động sống của tế bào cũng như các bào quan của tế bào. Từ những năm đầu của thế kỷ XX ra đời kỹ thuật nuôi cấy mô - tế bào *invitro* cho phép các nhà nghiên cứu quan sát được trạng thái sống của tế bào tương tự như trong cơ thể (*invivo*). Nguyên lý của phương pháp nuôi cấy tế mô - tế bào là: mô hoặc tế bào được tách ra khỏi cơ thể bằng phẫu thuật vô trùng và được nuôi cấy trong môi trường nuôi nhân tạo với các điều kiện (chất dinh dưỡng, độ pH, nhiệt độ...) tương tự *invivo*. Bằng phương pháp nuôi cấy tế bào kết hợp với các phương pháp hiện đại khác (kỹ thuật lai tế bào, kỹ thuật đánh dấu bằng chất đồng vị, đánh dấu bằng chất huỳnh quang, kỹ thuật ADN tái tổ hợp, kỹ thuật chuyển gen nhân bản vô tính, kỹ thuật tách chiết nhân bản và giải trình tự ADN...) các nhà nghiên cứu đã phát hiện nhiều cơ chế phân tử của các quá trình sống như quá trình tái bản mã, phiên mã, dịch mã, quá trình trao đổi chất và thông tin qua màng sinh chất, các quá trình chuyển hóa vật chất và năng lượng trong tế bào, trong ty thể, trong lục lạp, quá trình sản xuất và chế tiết các chất, cũng như các quá trình vận động co cơ, dẫn truyền thần kinh, điều hòa hoạt động của gen trong quá trình phát triển phôi thai... Kỹ thuật nuôi cấy mô cũng được áp dụng trong công nghệ tế bào, công nghệ gen.

IV- SINH HỌC TẾ BÀO VỚI SẢN XUẤT VÀ ĐỜI SỐNG

Một trong các thành tựu của Sinh học tế bào là ứng dụng các kiến thức của Sinh học tế bào vào thực tiễn sản xuất và đời sống. Ngay từ khi học thuyết tế bào được ra đời, chúng đã được ứng dụng

vào Y học. R. Virchow năm 1856 đã ứng dụng học thuyết tế bào vào nghiên cứu bệnh học và cho rằng bệnh của cơ thể là bệnh của tế bào và là do sự sai lệch trong cấu trúc và hoạt động của tế bào. Ông đã đề nghị bệnh ung thư là bệnh có cơ sở tế bào. Về sau khoa giải phẫu bệnh đã sử dụng chỉ tiêu sai lệch tế bào để chẩn đoán ung thư. Sự ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy tế bào *invitro*, lai tế bào, cấy chuyển nhân đã dẫn đến hình thành công nghệ thụ tinh trong ống nghiệm để chữa vô sinh, công nghệ tạo kháng thể đơn dòng để chẩn đoán và chữa bệnh, công nghệ nhân bản vô tính thực vật và động vật để sản xuất giống cây trồng và vật nuôi theo thiết kế của nhà sản xuất.

4.1. Công nghệ tế bào động vật

Áp dụng kỹ thuật nuôi cấy tế bào động vật khác nhau không chỉ để phục vụ cho nghiên cứu về di truyền học, về tế bào học, về sinh lý học, phân loại học... mà còn phục vụ cho công nghệ tế bào. Kết hợp với các kỹ thuật chuyển gen, kỹ thuật lai tế bào soma, các nhà công nghệ tế bào đã sản xuất các chế phẩm sinh học dùng làm thuốc phòng bệnh và chữa bệnh dùng trong Y tế và Thú y như các loại vacxin, interferon, kháng thể đơn dòng, các hoocmon, các nhân tố tạo máu, nhân tố chống đông máu, thuốc kháng u, thuốc diệt sâu bọ. Kỹ thuật nuôi cấy tế bào còn được sử dụng trong công nghệ lai tế bào, công nghệ nhân bản vô tính động vật, công nghệ tế bào gốc và công nghệ phôi.

a) Công nghệ nhân bản vô tính động vật

Nhân bản vô tính là thuật ngữ để chỉ quá trình hình thành cơ thể đa bào không bằng con đường sinh sản hữu tính (có sự kết hợp giữa tinh trùng và trứng để tạo ra hợp tử, từ hợp tử sẽ phát triển thành cơ thể) mà thông qua sự phát triển của tế bào soma (tế bào sinh dưỡng tạo nên các cơ quan) bằng cách phân bào nguyên nhiễm và biệt hóa tế bào thành cơ thể trong điều kiện nuôi cấy *invitro*. Đối với thực vật là cơ thể có khả năng sinh sản bằng phương thức sinh sản sinh dưỡng (sinh sản vô tính) từ các mô soma của rễ, thân, lá thì kỹ thuật nhân bản vô tính *invitro* không có gì khó khăn phức tạp. Nhưng đối với đa số động vật sinh sản bằng phương thức hữu tính thì kỹ thuật nhân bản có nhiều thủ thuật đặc biệt: đó là kỹ thuật chuyển nhân (nuclear transfert).

– Kỹ thuật chuyển nhân:

Trong nhân của tế bào soma có chứa 2n nhiễm sắc thể chứa hệ

gen quy định nên tất cả tính trạng của cơ thể giống như bộ nhiễm sắc thể của hợp tử. Qua quá trình phát triển, các tế bào soma từ hợp tử sẽ phân bào và biệt hóa cho ra các tế bào của các mô khác nhau. Quá trình biệt hóa là thể hiện sự biệt hóa trong hệ gen theo thời gian và không gian của phôi đang phát triển dưới sự kiểm soát của các nhân tố nội và ngoại bào. Các tế bào chưa được biệt hóa được gọi là tế bào gốc (stem cells) (tế bào gốc phôi, tế bào gốc cơ thể), chúng có tiềm năng phân bào và biệt hóa, vì vậy sử dụng tế bào gốc để nhân bản vô tính là dễ thực hiện hơn so với tế bào đã biệt hóa. Những thí nghiệm đầu tiên về kỹ thuật chuyển nhân để nhân bản vô tính phải thực hiện với tế bào phôi (phôi nang, phôi vị). Tại sao phải chuyển nhân? Bình thường người ta tách nhân từ tế bào cho (tế bào soma) và đem cấy chuyển vào tế bào trứng chưa thụ tinh đã bị lấy hoặc hủy nhân để tạo nên một tế bào 2n (giống như hợp tử) chứa nhân của tế bào cho và tế bào chất của tế bào nhận (trứng đã mất nhân). Vì lẽ rằng, nhân 2n của tế bào cho là tế bào soma đã biệt hóa ở mức độ nào đó do tế bào chất của nó quy định phù hợp với thời gian và không gian phát triển của phôi. Khi nhân này được cấy chuyển vào tế bào chất của trứng là môi trường giống như của hợp tử, thì nhân sẽ tái biệt hóa trở lại trạng thái như nhân của hợp tử, và hệ gen của nó sẽ hoạt hóa theo đúng chương trình phát triển do các nhân tố của trứng điều khiển.

Những thành công của nhân bản vô tính bằng cấy nhân được thực hiện ở ếch bằng cách sử dụng nhân của các tế bào soma lấy ở giai đoạn phôi. Năm 1952, lần đầu tiên hai nhà khoa học tại Philadelphi, R. Briggs và T. King đã nhân bản vô tính con nòng nọc bằng kỹ thuật chuyển cấy nhân từ tế bào phôi nang ếch. Từ những năm 1960, J. Gordon đã nhân bản vô tính thành công con ếch trưởng thành từ nhân của tế bào ruột nòng nọc và về sau từ nhân của tế bào ruột ếch. Về sau nhiều công trình nhân bản vô tính được thực hiện trên nhiều động vật như cá và cả động vật có vú.

– Nhân bản vô tính động vật có vú:

Đối với động vật có vú là động vật thụ tinh trong và phôi phát triển trong dạ con của mẹ dưới sự nuôi dưỡng qua rau thai, vì vậy kỹ thuật nhân bản vô tính khó khăn hơn và phức tạp hơn nhiều. Từ những năm 1960 - 1980, các nhà khoa học đã thành công trong kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm để tạo nên phôi người và cấy phôi vào dạ con người mẹ và sinh ra em bé được gọi là em bé sinh ra từ

ống nghiệm (em bé đầu tiên được sinh ra bằng kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm là em Brown, một công dân người Anh từ năm 1978).

Kết hợp kỹ thuật chuyển nhân với kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm, từ năm 1983, các nhà công nghệ tế bào đã nhân bản thành công đối với chuột từ nhân lấy ở giai đoạn phôi nang, và từ năm 1984 đến 1986, thực hiện nhân bản vô tính cừu, bò... từ nhân lấy ở giai đoạn phôi. Trước năm 1992, các nhà khoa học cho rằng, đối với động vật có vú chỉ có thể nhân bản vô tính thành công với nhân lấy từ giai đoạn phôi, còn đối với nhân của tế bào soma trưởng thành thì không thể thực hiện được vì tính biệt hóa của chúng là không thể đảo ngược.

Sự kiện tháng 2 - 1997, khi báo chí công bố con cừu Dolly ra đời bằng kỹ thuật nhân bản vô tính với nhân lấy từ tế bào tuyến vú của cừu mẹ trưởng thành 6 năm tuổi do ông I. Wilmut thực hiện tại Học viện Roslin ở Anh đã gây tiếng vang lớn trong giới khoa học và cả xã hội về nhiều phương diện. Sự thành công của Wilmut không chỉ nhờ có kỹ thuật thao tác phức tạp mà chủ yếu là do có hiểu biết sâu sắc không chỉ về sinh học phân tử mà chủ yếu về sinh học tế bào, về cơ chế điều khiển chu kỳ tế bào trong quá trình phát triển.

Tiếp theo cừu là hàng loạt động vật có vú được nhân bản vô tính như chuột, mèo, bò, lợn, dê, chó... và các nhà nhân bản vô tính tuyên bố sẽ nhân bản vô tính cả con người.

Công nghệ nhân bản vô tính được ứng dụng trong chăn nuôi tạo giống vật nuôi có năng suất cao, chất lượng tốt về sản phẩm (thịt, trứng, sữa, len...), đồng đều về tốc độ sinh trưởng, về thu hoạch sản phẩm... phục vụ cho chăn nuôi công nghiệp quy mô lớn, kết hợp với công nghệ gen tạo giống vật nuôi chống chịu bệnh tật, thích nghi với điều kiện chăn nuôi, cũng như sản xuất các sản phẩm đặc thù (thịt, trứng, sữa có chứa vacxin, chất sinh trưởng, chất dinh dưỡng quý hiếm...).

Công nghệ nhân bản vô tính được ứng dụng trong y học để tạo các mô, các cơ quan phục vụ cho liệu pháp cấy ghép mô cơ quan.

Công nghệ nhân bản vô tính người với mục tiêu sinh sản, tức là để sinh ra một con người đã được nhiều nước và Liên hiệp quốc ngăn cấm vì có thể gây ra nhiều hậu quả vi phạm đạo đức.

b) Công nghệ tế bào gốc

– Tế bào gốc (stem cells) là những tế bào có khả năng sinh sản và

biệt hóa cho ra các tế bào biệt hóa. Người ta phân biệt các tế bào gốc phôi và tế bào gốc trưởng thành. Tế bào gốc phôi là những tế bào gốc khi biệt hóa sẽ cho ra các tế bào gốc trưởng thành và các tế bào biệt hóa của giai đoạn phát triển phôi thai. Tế bào gốc trưởng thành là những tế bào gốc của cơ thể trưởng thành, có khả năng sinh sản và biệt hóa cho ra các tế bào biệt hóa của mô cần thay thế, tái sinh. Người ta phân biệt tế bào gốc soma (sản sinh và biệt hóa cho ra các tế bào của các mô, như tế bào gốc da, tủy xương...) và tế bào gốc sinh dục (sản sinh và biệt hóa cho ra các giao tử).

Tùy theo mức độ về tiềm năng biệt hóa, người ta còn phân biệt: *tế bào gốc toàn năng* (là tế bào gốc có khả năng sinh sản và biệt hóa cho ra tất cả các loại tế bào biệt hóa của bất kỳ mô nào, ví dụ, tế bào gốc phôi sớm), *tế bào gốc đa năng* (là tế bào gốc có khả năng sinh sản và biệt hóa cho ra chỉ vài loại tế bào biệt hóa, ví dụ, tế bào gốc tủy xương có khả năng cho ra các dòng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu..), *tế bào gốc đơn năng* (là tế bào gốc chỉ có khả năng sản sinh và biệt hóa cho ra một dòng tế bào biệt hóa, ví dụ, tế bào gốc da chỉ cho ra các tế bào biểu mô da, tế bào gốc ruột chỉ cho ra dòng tế bào biểu mô ruột...).

– Ứng dụng công nghệ tế bào gốc: Công nghệ tế bào gốc được ứng dụng trong tạo giống vật nuôi bằng cách kết hợp với công nghệ gen, công nghệ nhân bản. Ngoài ra, nghề chăn nuôi của thế giới đang đứng trước một thử thách lớn: qua chăn nuôi trong điều kiện tự nhiên, nhân loại đã bị hứng chịu những dịch bệnh lớn như kiểu dịch cúm gia cầm do virut H5N1, các nhà chăn nuôi sẽ bị phá sản khi phải giết bỏ hàng triệu vật nuôi. Công nghệ tế bào gốc mở ra một hứa hẹn lớn: sản xuất theo quy mô công nghiệp các sản phẩm chăn nuôi (thịt, trứng, sữa, len...) bằng kỹ thuật nuôi cấy tế bào gốc *invitro* tạo ra các mô, cơ quan cần thiết trong nhà máy không thông qua chăn nuôi, như vậy vừa tiết kiệm, vừa dễ dàng kiểm soát được dịch bệnh.

Công nghệ tế bào gốc được ứng dụng trong Y học làm *liệu pháp tế bào,* tức là sử dụng kỹ thuật phân lập, cất giữ và nuôi cấy các tế bào gốc và điều khiển cho chúng biệt hóa thành bất kỳ dòng tế bào nào, mô nào để làm nguyên liệu thay thế tế bào mô hỏng, bị tổn thương cần thay thế. Sử dụng liệu pháp gen (thay thế gen hỏng bằng gen lành cho người bệnh) có thể gây nhiều nguy hiểm vì người ta không thể kiểm soát được hoạt động của gen trong hệ gen. Sử dụng liệu pháp cấy ghép cơ quan không đem lại kết quả lâu dài, hơn nữa nguồn

cơ quan càng ngày càng khan hiếm. Vì vậy, liệu pháp thay thế tế bào mô bằng công nghệ tế bào gốc sẽ đem lại hiệu quả mong muốn vì có nhiều ưu thế. Tế bào gốc toàn năng của bản thân mỗi con người được phân lập, cất giữ, và khi cần được nuôi cấy cung cấp kịp thời nguồn nguyên liệu thay thế cho bất kỳ tế bào nào, mô nào bị hư hỏng, tổn thương. Trường hợp xảy ra bị bỏng nặng, tổn thương da, tế bào gốc được nuôi cấy và cho biệt hóa ra mô da kịp thời gắn vá vùng da bị hỏng. Trường hợp bị suy tủy xương, ung thư tủy xương thì mô tủy xương hỏng được chích bỏ và được thay thế từ nguồn tế bào gốc tủy xương được nuôi cấy từ tế bào gốc. Liệu pháp tế bào gốc mở ra triển vọng chữa trị nhiều bệnh như ung thư, bỏng, Parkinson, Alzheimer, chấn thương tủy sống, đột quỵ tim mạch, tiểu đường typ I, viêm gan, teo cơ, mù, rụng tóc...

c) Công nghệ sản xuất kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody)

Kỹ thuật lai tế bào soma động vật *invitro* không chỉ để nghiên cứu di truyền tế bào soma mà còn được ứng dụng trong thực nghiệm Y học để sản xuất kháng thể đơn dòng, là kháng thể có tính đồng nhất về cấu trúc và tính chất được sử dụng trong miễn dịch học để nhận dạng và phân tích các kháng nguyên đặc thù, sử dụng trong kỹ thuật cấy ghép mô và cơ quan, trong chẩn đoán ung thư, dẫn dắt định hướng thuốc đến nơi cần đến v.v... Chuột nhắt được gây miễn dịch bằng một kháng nguyên nào đó, trong huyết thanh miễn dịch của chuột sẽ xuất hiện các kháng thể đa dòng khác nhau tuy mỗi dòng tế bào limpho B chỉ sản xuất một loại kháng thể đơn dòng. Bằng kỹ thuật nuôi cấy *invitro* với môi trường chọn lọc có chứa HAT (gồm Hypoxantin, Aminopterin và Timidin), người ta nuôi các tế bào limpho B được tách từ lách chuột đã được miễn dịch với các tế bào u tủy myeloma và người ta thu nhận được các tế bào lai (hybridoma). Các tế bào limpho B có khả năng tổng hợp kháng thể và có thể chống chịu được môi trường chứa HAT, nhưng chúng không sống được lâu và nhanh chóng bị chết đi. Các tế bào u tuỷ myeloma không có khả năng tổng hợp kháng thể nhưng chúng có khả năng sống rất lâu trong điều kiện nuôi cấy *invitro*, nhưng vì trong môi trường chọn lọc có HAT là chất chúng không chống chịu được cho nên chúng cũng bị chết. Trái lại, các tế bào lai vừa có khả năng tổng hợp kháng thể, sống được trong môi trường chứa HAT lại vừa có khả năng phân bào và sống lâu dài. Bằng kỹ thuật chọn dòng (clonning) để tạo ra quần

thể tế bào xuất phát từ chỉ một tế bào lai và mỗi dòng tế bào lai sẽ chỉ sản xuất ra một loại phân tử kháng thể hoàn toàn giống nhau - đó là kháng thể đơn dòng.

Kháng thể đơn dòng được sản xuất hàng loạt và có nhiều ứng dụng thực tiễn. Chúng có thể được dùng để chẩn đoán và chữa trị các bệnh nhiễm trùng, dùng để thử nghiệm miễn dịch để phát hiện các kháng nguyên với nồng độ thấp. Các kháng thể đơn dòng chống kháng nguyên ung thư được sử dụng để chẩn đoán và điều trị ung thư, đặc biệt có hiệu quả khi dùng kết hợp với các hoá chất độc như ricin chẳng hạn. Có thể dùng kháng thể đơn dòng dẫn dắt, hướng chất thuốc đến đúng mô ung thư để tiêu diệt chúng, do đó không gây ảnh hưởng tác hại đến mô lành. Kết hợp với kỹ thuật chuyển gen với kỹ thuật lai soma, người ta đã chế được các kháng thể đơn dòng đặc hiệu của người, do đó không gây nên phản ứng miễn dịch có hại khi dùng chúng.

4.2. Công nghệ tế bào thực vật

a) Công nghệ nhân bản vô tính và vi nhân giống cây trồng

Để tạo nên các giống cây trồng có sản lượng cao, thích nghi với điều kiện sinh thái, các nhà trồng trọt thường sử dụng nhiều kỹ thuật tạo giống như: bằng phương pháp lai hữu tính, bằng phương pháp gây đột biến nhân tạo, bằng phương pháp đa bội thể. Để nhân giống nhanh, người ta thường sử dụng các biện pháp sinh sản dinh dưỡng (vô tính) như kỹ thuật giâm củ, giâm cành, chiết, ghép cành... Những biện pháp trên đây đã đem lại những thành tựu to lớn của cuộc cách mạng xanh từ những năm 60 của thế kỷ XX và đã cứu hàng trăm triệu người thoát khỏi nạn đói kém. Nhưng với sự phát triển của nền kinh tế thế giới, những công nghệ tạo giống cây trồng trên đây không đáp ứng được nhu cầu về sản lượng lương thực, thực phẩm mà nhân loại trên 6 tỷ người đòi hỏi. Công nghệ sinh học giống cây trồng đã kết hợp các công nghệ truyền thống với công nghệ sinh học hiện đại (như công nghệ nuôi cấy tế bào, lai tế bào trần, chuyển gen, nhân bản vô tính..) mà đại diện là *công nghệ vi nhân giống.*

b) Công nghệ vi nhân giống

Công nghệ vi nhân giống là công nghệ kết hợp kỹ thuật nuôi cấy tế bào, kỹ thuật lai tế bào cũng như kỹ thuật chuyển gen nhằm mục đích sản xuất cây giống có đặc điểm được dự tính, một cách nhanh, nhiều, tốt, rẻ.

Từ mô sẹo trong nuôi cấy *invitro* (từ tế bào thuần, hoặc tế bào lai, hoặc tế bào được chuyển gen...) sẽ tái sinh ra các chồi non, chồi non được cắt nhỏ thành nhiều đoạn, mỗi đoạn lại tái sinh thành chồi, chồi lại được cắt nhỏ, đoạn cắt lại được tái sinh... và như vậy các nhà tạo giống có thể tạo nên một "ngân hàng cây giống" theo đơn đặt hàng của thị trường. Hiện nay hàng loạt cây giống như cây lương thực, cây thực phẩm, cây dược liệu, cây hoa, cây ăn trái, cây rừng... đang được sản xuất theo quy mô công nghiệp bằng công nghệ vi nhân giống. Công nghệ vi nhân giống có ý nghĩa kinh tế cao, nhất là đối với các cây sinh sản chậm (cây rừng, cây gỗ, cây ăn trái, cây dược liệu), hoặc đối với cây có giá trị đại chúng cần cung cấp số lượng cây giống rất nhiều trong thời gian ngắn như cây hoa (hoa hồng, phong lan...). Để nhân giống hoa hồng từ các đoạn thân có mắt ghép từ cây mẹ thì trong một năm tối đa người ta chỉ tạo được 20 - 50 cây con. Nhưng với kỹ thuật vi nhân giống, người ta có thể tạo được 500.000 cây hoa hồng trong một năm. Hơn nữa chỉ thông qua kỹ thuật vi nhân giống mới có thể tạo được các giống cây thuần, cây lai, cây chuyển gen đồng đều về chất lượng, về tính chịu bệnh... và mang các đặc tính đáp ứng thị hiếu của người tiêu dùng. Ví dụ, sử dụng kỹ thuật vi nhân giống kết hợp kỹ thuật chuyển gen, các nhà công nghệ sinh học đã tạo được cây hoa có hình dạng, màu sắc cánh hoa rất đặc biệt chưa hề có trong tự nhiên, có giá trị thẩm mỹ và lợi nhuận cao.

c) Công nghệ tạo cây lai soma

Trong công tác tạo giống người ta thường sử dụng phương pháp lai hữu tính để tạo cây lai có được đặc tính di truyền của bố và mẹ. Nhưng lai hữu tính chỉ có thể thực hiện được giữa các cá thể thuộc cùng một loài, nếu lai khác loài thì cây lai thường bất thụ. Hơn nữa cây lai không phải khi nào cũng cho những đặc tính mà nhà chọn giống mong muốn, cây lai thường hay nhạy cảm với bệnh, do đó tạo giống lai hữu tính quá tốn kém và lâu dài. Công nghệ nuôi cấy tế bào và lai tế bào trần đã cho phép các nhà tạo giống tạo nên những tế bào lai khác loài, khác chi, thậm chí khác họ, bộ... Những tế bào lai này được gọi là *tế bào lai soma* (vì do 2 tế bào soma kết hợp với nhau). Từ tế bào lai tạo nên mô sẹo và sẽ tái sinh nên cây lai soma mang đặc tính di truyền của cả bố và mẹ chẳng khác gì cây lai hữu tính. Từ những năm 70 của thế kỷ XX, người ta đã tạo được tế bào lai soma từ 2 loài thuốc lá và tái sinh được cây thuốc lá lai trọn vẹn. Đặc biệt là

dùng kỹ thuật lai soma để lai tế bào khoai tây với tế bào cà chua đã tạo nên cây lai "Pomat" mang đặc tính của khoai tây và của cà chua. Người ta cũng đã tạo được cây lai từ tế bào của cà rốt và mùi tây.

Hiện nay công nghệ tạo cây lai soma được thực hiện không chỉ ở thuốc lá, khoai tây, cà chua... mà cả cây ăn trái, cây lương thực (lúa, ngô...) và cả cây hoa.

d) Công nghệ nuôi cấy tế bào để sản xuất các chế phẩm sinh học

Thực vật không chỉ cung cấp cho con người lương thực và thực phẩm mà còn cung cấp các chất dược liệu quý, chất nhuộm màu, chất dùng trong công nghiệp hóa chất... (bảng 1).

Bảng 1. Vai trò của một số hợp chất chiết xuất từ thực vật

Hợp chất từ thực vật	Vai trò
Terpen	Kháng vi khuẩn
Terpenoid	Kháng ung thư
Flavonoid	Chống co thắt
Phenylpropanoid	Tăng lực
Amin	Diệt sâu
Alcaloid	Kích thích, xoa dịu
Hợp chất cyanogen	Chất thơm
Quynon	Tạo dầu thơm
Saponin	Kháng viêm
Coumarin	Cường tim
Chất màu	Tạo màu
Vitamin	Vai trò đa dạng
Enzim, protein, peptid	Vai trò đa dạng
Steroid	Vai trò đa dạng
Polisaccarid	Vai trò đa dạng

Các nhà sản xuất muốn thu nhận chế phẩm từ thực vật phải chiết xuất chúng từ các bộ phận của cây mọc trong tự nhiên hoặc trồng trong vườn ươm bằng kỹ thuật lý hóa phức tạp, tốn kém. Các chế phẩm từ thực vật rất phức tạp nên rất khó tổng hợp nhân tạo và

giá thành rất cao. Các cây dược liệu mọc ở vùng nhiệt đới và ôn đới phải vài năm đến hàng chục năm mới cho chế phẩm vì cây sinh trưởng chậm và các chất chỉ tích lũy trong các bộ phận trưởng thành của cây như lá, thân, rễ hoặc hoa. Ví dụ, chất *berberin* chiết xuất từ rễ cây hoàng liên (*Coptis japonica*) ở tuổi 6 năm, chất *ginsenosid* là chất tăng dưỡng có ở rễ cây nhân sâm (*Panax ginseng*) có tuổi từ 4 - 10 năm. Muốn thu được 10g chất *vinblastin* và 1g *vincristin* để làm thuốc, nhà sản xuất phải dùng tới 10 tấn nguyên liệu thô và khô, thế nhưng lượng thuốc đó cũng chỉ để chữa cho em bé bị bệnh ung thư bạch cầu trong một tuần.

Công nghệ sinh học (CNSH) nuôi cấy tế bào kết hợp kỹ thuật chuyển gen đã giúp cho các nhà sản xuất giải quyết những khó khăn trên đây và đẩy mạnh công nghiệp sản xuất các chế phẩm sinh học cũng như các dược phẩm từ thực vật với số lượng lớn, giá thành rẻ, đáp ứng nhanh chóng và kịp thời nhu cầu thị trường dược phẩm và hóa phẩm.

Chế phẩm đầu tiên được sản xuất theo quy mô công nghiệp bằng CNSH được thực hiện ở Nhật từ năm 1983 là chất *shikonin* - chất sắc tố màu đỏ có trong cây *Lithospermum erithrorhizon*, có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm và kháng ung thư, đồng thời là chất phẩm màu có giá trị cao. Nhờ công nghệ nuôi cấy tế bào, năng suất sản phẩm *shikonin* đã tăng gấp 15 lần so với phương pháp chiết xuất truyền thống từ cây.

Công nghệ nuôi cấy tế bào thực vật áp dụng để sản xuất các chế phẩm sinh học gồm các công đoạn sau:

– Chọn lọc cây để lấy mô cấy phải là cây khỏe mạnh, sức sống tốt, có năng suất cao về sản phẩm cần thiết.

– Tiến hành nuôi cấy các mảnh mô từ lá, thân hoặc rễ... trong môi trường thích hợp (thường là môi trường đặc) để sản xuất các mô sẹo. Từ các khối mô sẹo sẽ được tách nhỏ ra thành nhiều mẻ cấy (qua 15 ngày nuôi cấy) được nuôi trong các điều kiện khác nhau về nhiệt độ, độ pH, thời gian chiếu sáng, nồng độ các chất hoocmon thực vật thích hợp, tạo điều kiện cho sự hình thành các dòng tế bào biệt hóa khác nhau dùng làm dòng gốc cho các mẻ nuôi cấy về sau.

– Tiến hành chọn lọc các dòng gốc có năng suất cao về chế phẩm cần sản xuất, có thể căn cứ vào màu sắc của mô cấy (nếu là chế phẩm màu), hoặc bằng kỹ thuật tinh chế và định lượng chế phẩm được sản sinh ra trong mẻ cấy.

– Tiến hành chuyển nuôi cấy sang môi trường lỏng để tăng sức sinh trưởng của mô cấy và tăng sản lượng chế phẩm với các bình cấy dung tích lớn (250ml). Các dòng gốc có năng suất cao được chuyển sang nuôi cấy đại trà hoặc được cất giữ lâu dài trong bình nitơ lỏng.

– Tiến hành sản xuất ở mức đại trà với quy mô nuôi cấy lớn trong các lò phản ứng sinh học (bioreactor) có hệ ổn hóa, có hệ điều chỉnh tự động về các điều kiện nuôi cấy với độ tiệt trùng cao. Các lò phản ứng có dung tích từ hàng chục đến hàng trăm mét khối.

– Cuối cùng là công đoạn chiết và tinh chế các chế phẩm cần sản xuất.

Kết hợp kỹ thuật chuyển gen, các nhà sản xuất có thể thu được các chế phẩm hoàn toàn mới không có ở thực vật (có nguồn gốc từ vi sinh vật, từ động vật hoặc con người) để làm thuốc như nuôi cấy mô cây thuốc lá để sản xuất *testosteron*, hay sử dụng nuôi cấy tế bào cây *Catharanthus roseus* để sản xuất thuốc chống viêm *pericin*. Sản xuất các chế phẩm sinh học bằng CNSH đã đem lại lợi nhuận to lớn cho các công ty, vì vậy mà các công ty dược phẩm xuyên quốc gia đã bỏ ra hàng trăm triệu USD cho các dự án nghiên cứu và sản xuất các chế phẩm, chủ yếu là dược phẩm bằng CNSH. Năm 2001 các hãng dược phẩm đã thu lợi nhuận về mặt hàng CNSH đạt 10 tỷ USD.

PHẦN I

TỔ CHỨC PHÂN TỬ CỦA TẾ BÀO

Chương I

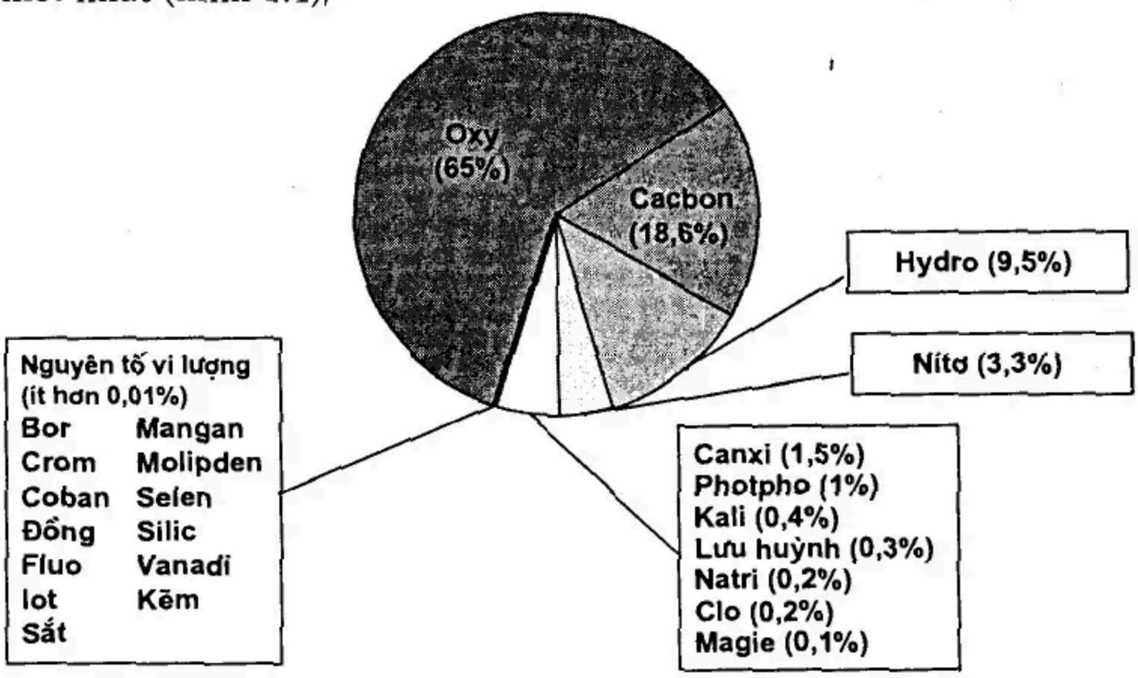
THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA TẾ BÀO

A- CÁC CHẤT VÔ CƠ TRONG TẾ BÀO

I- THÀNH PHẦN NGUYÊN TỐ CỦA TẾ BÀO

1.1. Các nguyên tố cấu tạo nên tế bào

Mặc dù hệ thống sống khác với hệ thống vô cơ nhưng các nguyên tố hoá học cấu tạo nên tế bào của các cơ thể sống là các nguyên tố có trong tự nhiên. Trong số 92 nguyên tố có trong tự nhiên, người ta đã tìm thấy có 25 - 30 nguyên tố có trong cơ thể sống là phổ biến và cần thiết nhất (hình 1.1).



Hình 1.1. Sơ đồ thể hiện hàm lượng các nguyên tố có trong cơ thể người (% so với khối lượng cơ thể)

1.2. Vai trò của các nguyên tố

Các nguyên tố cấu tạo nên tế bào có hàm lượng và vai trò không giống nhau. Người ta phân biệt các nguyên tố đại lượng là các nguyên tố có hàm lượng nhiều hơn 0,01% (so với khối lượng cơ thể), trong đó có các nguyên tố chủ yếu là cacbon (C), oxy (O), hydro (H) và nitơ (N) với hàm lượng chiếm 96% (so với khối lượng cơ thể), là những nguyên tố đóng vai trò quyết định, xây dựng nên các chất hữu cơ, các cấu trúc của tế bào và cơ thể. Các nguyên tố có hàm lượng ít hơn 0,01% được gọi là nguyên tố vi lượng (hay còn gọi là nguyên tố vết). Các nguyên tố vi lượng tuy với hàm lượng vô cùng ít nhưng chúng có vai trò quan trọng trong các hoạt động sống của cơ thể.

Bảng 1.1. Mối tương quan giữa hàm lượng và vai trò của các nguyên tố

Tên nguyên tố	Hàm lượng % so với khối lượng cơ thể	Vai trò
Chủ yếu	Trên 3	- Cấu tạo nên các chất hữu cơ của tế bào
Đại lượng	Trên 0,01	- Cấu tạo nên các chất hữu cơ - Tham gia hoạt động sống
Vi lượng	Dưới 0,01	- Tham gia hoạt động sống

II- CÁC CHẤT VÔ CƠ

Các nguyên tố trong tế bào liên kết với nhau tạo nên các chất vô cơ và chất hữu cơ.

Các chất vô cơ có trong tế bào có thể ở dạng các muối vô cơ và nước.

2.1. Muối vô cơ: Các muối vô cơ có trong cơ thể dưới 2 dạng

– Dạng các muối ít nhiều hoà tan trong nước, thường có trong các mô cứng như xương, vỏ ốc. Đó là các muối canxi (photphat canxi, cacbonat canxi), muối silic, muối magie...

– Dạng các ion như cation Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} và các anion: Cl^-, SO_4^{2-}, HCO_3^-, HPO_4^-, ...

Chúng rất cần thiết cho các hoạt động sống của tế bào và cơ thể, tham gia các phản ứng, duy trì cân bằng nội môi.

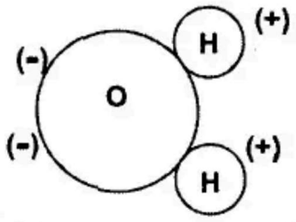
2.2. Nước và vai trò sinh học của nước

Nước là thành phần vô cơ quan trọng bậc nhất đối với tế bào và cơ thể, hàm lượng chiếm đến 70% khối lượng cơ thể và vai trò của chúng đặc biệt quan trọng đối với hoạt động sống.

a) Cấu tạo và đặc tính của nước

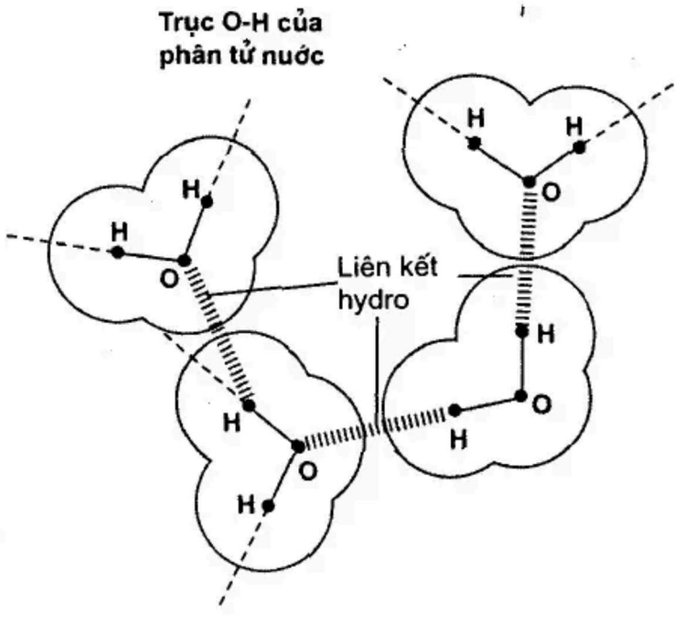
Nước có cấu tạo hoá học rất đơn giản, gồm 2 nguyên tử hydro (H) liên kết cộng hoá trị với 1 nguyên tử oxy (O) và có công thức hoá học là H_2O, nhưng nước có các tính chất rất đặc biệt, do đó có vai trò quan trọng đối với cơ thể.

– Tính phân cực của nước: Phân tử H_2O là phân cực (hình 1.2) thể hiện ở vùng oxy mang điện tích âm (-) còn ở vùng hydro mang điện tích dương (+).



Hình 1.2. *Sơ đồ thể hiện tính phân cực của phân tử H_2O*

– Tính liên kết của nước: Do tính phân cực của các phân tử nước cho nên các phân tử nước có thể liên kết với nhau nhờ liên kết hydro (hình 1.3) tạo nên cột nước liên tục, hoặc tạo nên màng phim bề mặt khối nước.



Hình 1.3. *Liên kết hydro giữa các phân tử H_2O*

Trong cơ thể thực vật, nước có thể đi từ đất qua rễ, thân, lá theo mạch gỗ và thoát ra ngoài qua khí khổng của lá là nhờ thoát hơi nước của lá... nhưng đồng thời nhờ các phân tử nước liên kết với nhau thành cột nước liên tục trong mạch dẫn. Nước liên kết với nhau tạo nên sức căng bề mặt do đó tạo nên màng phim trên bề mặt ao, hồ, sông, nhờ đó con bọ cất vó có thể đứng và chạy được trên mặt nước.

– Tính điều hòa nhiệt của nước: Nước điều hòa nhiệt độ không khí bằng cách hấp thụ nhiệt từ không khí khi nóng quá và thải nhiệt dự trữ khi quá lạnh. Nước được xem như ngân hàng dự trữ nhiệt bởi vì nước hấp thụ và thải nhiệt khi có sự thay đổi nhiệt độ dù là rất ít. Bề mặt Trái Đất được bao phủ bởi nhiều bề mặt nước, nước điều hòa nhiệt độ môi trường trong giới hạn cho phép các cơ thể sống có thể thích nghi được. Nước đóng vai trò điều hòa nhiệt độ trong cơ thể bằng cách khi lạnh giữ nhiệt còn khi nóng sẽ giải thoát nhiệt bằng cách bốc hơi nước (ví dụ sự thoát mồ hôi).

– *Tính cách ly của nước nhờ trạng thái đá đông nổi:* Một trong tính chất của nước khác các chất lỏng khác là ở nhiệt độ thấp (0^0C) nước bị đông thành đá nhưng không chìm xuống đáy mà trôi nổi trên bề mặt tạo nên tầng nước cách ly ở phía dưới sâu, do đó về mùa đông khi ao hồ, sông ngòi, biển bị đóng băng,các sinh vật vẫn có thể sống ở trong nước ở các tầng sâu dưới lớp băng.

b) Vai trò của nước trong tế bào và cơ thể. Do nước có nhiều tính chất đặc biệt cho nên nước có vai trò vô cùng quan trọng trong đời sống tế bào và cơ thể. Có thể nói không có nước sẽ không có sự sống.

- Nước là dung môi của sự sống: Đa số các chất vô cơ và chất hữu cơ (chất hòa tan) đều tan trong nước (dung môi) tạo nên các dung dịch nước, vì vậy trong cơ thể sống nước là môi trường khuếch tán của các chất và các chất lỏng trong cơ thể đều là dung dịch nước.

Trong dung dịch nước, các chất phân cực cũng như các ion đều có ái lực với nước nên được gọi là chất ưa nước. Các chất có phân tử lớn, các phức hợp phân tử là ưa nước tuy chúng không tan trong nước mà giữ trạng thái lơ lửng trong dịch lỏng tế bào tạo nên dung dịch keo loại. Dung dịch keo loại đóng vai trò quan trọng đối với tế bào vì chúng có thể biến đổi từ trạng thái lỏng (sol) sang trạng thái sệt (gel) và ngược lại. Sợi bông được cấu tạo từ xenlulozơ tuy không tan trong nước nhưng ưa nước vì có chứa một phần tích điện âm và một phần

tích điện dương, cho nên các phân tử nước liên kết với các sợi xenlulozơ, do đó thành xenlulozơ của tế bào thực vật dẫn nước. Quần áo, khăn lau bằng sợi bông dễ dàng thấm nước làm khô da, nhưng có thể đem giặt mà không bị tan trong nước.

– Nước tham gia vào các phản ứng trao đổi chất (phản ứng trùng hợp, phản ứng thủy phân, quang hợp), nước liên kết với các đại phân tử nhờ liên kết hydro.

– Độ pH của dung dịch gây ảnh hưởng đến hoạt động sống của tế bào.

Phân tử nước có thể bị phân ly thành ion H^+ và ion OH^-. Trong 1 lít nước sạch ở nhiệt độ 25^0C có khoảng 10 triệu phân tử nước bị phân ly thành ion hydro (H^+) và ion hidroxit (OH^-) với số lượng bằng nhau (10 triệu ion, tức là $10^{-7}M$). Người ta cho rằng pH của nước sạch là pH = 7 được gọi là pH trung tính. Dịch tế bào cũng như dịch cơ thể sống đều là dung dịch nước trong đó hòa tan nhiều chất khác nhau. Các ion H^+ và OH^- sẽ phản ứng với các chất axit hoặc bazơ có trong dung dịch gây nên sự mất cân bằng giữa ion H^+ và ion OH^-, làm thay đổi độ pH của dung dịch. Sự thay đổi này (độ pH) gây ảnh hưởng đến hoạt động sống của tế bào và cơ thể. Khi ta cho thêm vào dung dịch nước một chất axit nào đó, chất axit sẽ hòa tan trong nước và sẽ làm tăng nồng độ các ion H^+ của dung dịch. Ví dụ, khi cho axit clohidric (HCl) vào nước, chúng sẽ phân ly thành ion H^+ và Cl^-. Như vậy nồng độ H^+ trong dung dịch sẽ tăng cao so với ion OH^-, và người ta gọi dung dịch đó là dung dịch axit. Các chất làm giảm nồng độ H^+ (so với nồng độ OH^-) của dung dịch được gọi là chất bazơ. Ví dụ, chất ammonia (NH_3) tác động như một bazơ vì chúng liên kết với các ion H^+ để tạo thành ion ammoni (NH_4^+). Chất NaOH khi tan trong nước sẽ phân ly thành ion Na^+ và ion OH^-, như vậy chúng làm tăng nồng độ ion OH^- của dung dịch. Dung dịch có nồng độ OH^- nhiều hơn nồng độ ion H^+ được gọi là dung dịch kiềm. Để đánh giá độ axit hay độ kiềm của một dung dịch người ta sử dụng thang pH gồm 14 bậc từ pH=1 đến pH=14. Độ pH =7 là dung dịch trung tính (nồng độ ion H^+ bằng nồng độ ion OH^-), dung dịch có độ pH >7 là dung dịch kiềm (nồng độ ion H^+ ít hơn nồng độ ion OH^-), còn dung dịch có nồng độ pH < 7 là dung dịch axit (có nồng độ ion H^+ nhiều hơn nồng độ ion OH^-). Ví dụ, dịch dạ dày, nước quả chanh có độ pH = 2; nước quả cà chua có độ pH = 4; nước tiểu có độ pH = 6, máu người có độ pH = 7,4;

nước biển có độ pH = 8,5; chất tẩy rửa có độ pH = 12 - 13. Cần chú ý là độ sai khác của một bậc độ pH là thể hiện sai khác 10 lần nồng độ ion H^+ và ion OH^-. Ví dụ, từ độ pH = 3 đến pH = 6 sẽ khác nhau 1000 lần, có nghĩa là dung dịch có độ pH = 3 có tính axit hơn 1000 lần so với dung dịch pH = 6. Đa số dịch tế bào cũng như dịch cơ thể sống có độ pH = 7 (trung tính), và độ pH này cần được giữ ổn định. Nếu có sự biến đổi pH có thể dẫn đến nguy hại vì các quá trình hóa học trong tế bào rất nhạy cảm với nồng độ ion H^+ cũng như OH^-. Tế bào và cơ thể có cơ chế để điều chỉnh tính ổn định độ pH bằng các chất đệm. Ví dụ, máu người có độ pH = 7,4; nếu độ pH của máu bị giảm còn 7 hoặc tăng lên 7,8 có thể gây nguy hiểm đến tính mạng. Một trong các chất đệm điều chỉnh tính ổn định pH của máu cũng như của các dịch cơ thể là axit cacbonic (H_2CO_3), khi phân ly chúng sẽ cho ion H^+ và ion HCO_3^- (ion bicacbonat).

H_2CO_3 (axit cacbonic) <====> HCO_3^- (ion bicacbonat) + H^+

Nếu pH của máu tăng lên 7,8 nghĩa là trong máu quá ít H^+ thì axit cacbonic sẽ bị phân ly cung cấp ion H^+ để điều chỉnh độ pH = 7,4. Nếu độ pH giảm xuống 7 nghĩa là trong máu quá nhiều H^+ thì các ion bicacbonat sẽ thu nhận H^+ tạo thành axit cacbonic để điều chỉnh pH về mức 7,4. Đa số các chất đệm trong cơ thể thường tạo thành cặp axit - bazơ và hoạt động điều chỉnh giống như cặp axit cacbonic - bazơ cacbonat.

– Nước có vai trò điều hòa nhiệt: Nhờ sự hấp thụ nhiệt và sự bốc hơi, nước điều hòa nhiệt độ cho tế bào và cơ thể. Ví dụ, sự bốc hơi nước ở lá cây tránh cho các tế bào bị thiêu đốt bởi ánh nắng, sự bốc hơi nước trong mồ hôi của da làm chúng ta mát dịu trong mùa hè nóng bức, hoặc khi lao động căng thẳng.

Nước trong tế bào và cơ thể luôn được đổi mới. Một người nặng 60kg cần cung cấp 2-3 lít nước/ngày. Nếu cơ thể chúng ta mất trên 20% lượng nước, có thể dẫn tới tử vong.

Hiện nay môi trường sống bị ô nhiễm, các nguồn nước bị ô nhiễm không chỉ vì các chất độc hại, các vi sinh vật gây bệnh do con người thải vào nước mà đặc biệt là bị ô nhiễm vì mưa axit.

Mưa axit

Bình thường nước mưa có độ axit nhẹ (có pH khoảng 5 - 5,5) còn nước mưa axit

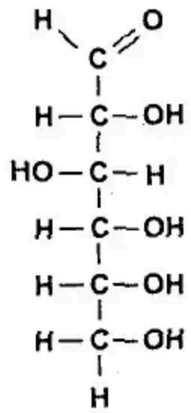
có độ axit rất cao (có pH khoảng 2-3) nghĩa là chua như dấm. Do sự công nghiệp hoá và đô thị hoá, *các xí nghiệp, nhà máy, máy bay, ô tô, xe máy... đã thải rất nhiều khí* độc (nhất là khí oxit cacbon, oxit sunphua, oxit nitơ...) vào khí quyển, các khí này phản ứng với hơi nước trong không khí tạo nên các chất axit, *các chất axit theo mưa*, tuyết, sương rơi xuống bề mặt đất, sông ngòi ao hồ, thấm vào đất, bám vào thực vật, động vật làm ô nhiễm môi trường, gây nguy hiểm và chết cho sinh vật và con người. Mưa axit có thể gây hại cho cả cánh rừng, vườn cây, đồng cỏ rộng lớn.

B- CÁC CHẤT HỮU CƠ TRONG TẾ BÀO

Chất hữu cơ là những hợp chất chứa cacbon (trừ CO_2 và cacbonat là các hợp chất vô cơ chứa cacbon). Đó là những phân tử được tạo thành do sự liên kết của các nguyên tử C với H, O, và N theo nhiều cách khác nhau trong đó nguyên tử C đóng vai trò quan trọng, là cái khung với 4 electron (điện tử) ở vòng ngoài cùng, liên kết với H và O để tạo nên cacbohydrat hoặc lipit; hoặc liên kết với H, O, và N để tạo nên protein và axit nucleic là những chất hữu cơ chủ yếu có vai trò quyết định đối với tế bào.

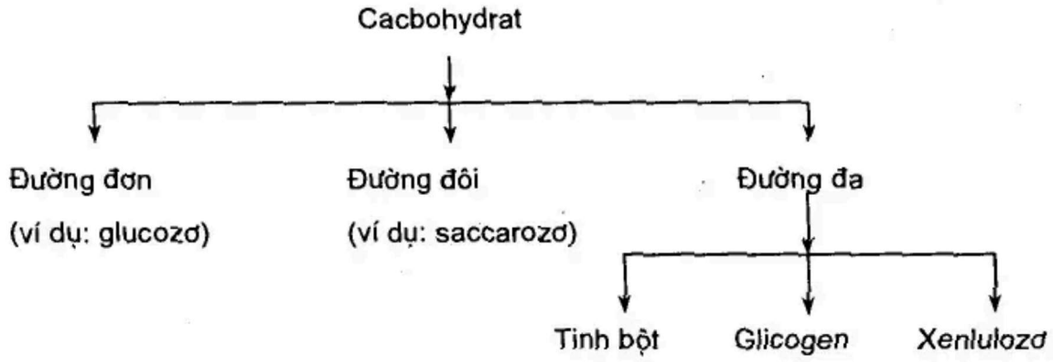
I- CACBOHYDRAT (GLUXIT)

Cacbohydrat (saccarid) là hợp chất hữu cơ được cấu tạo từ C, H và O theo công thức chung $(CH_2O)_n$, trong đó tỷ lệ giữa H và O giống như H_2O, nghĩa là 2: 1. Ví dụ, phân tử cacbohydrat đơn giản là đường glucozơ có công thức là $C_6H_{12}O_6$.



Glucozơ

Cacbohydrat bao gồm những hợp chất như: đường đơn, đường đôi, đường đa (đường phức).



1.1. Đường đơn (monosaccarid)

a) Tính chất của đường đơn

– Đường đơn là những chất kết tinh có vị ngọt và tan trong nước.

– Đường đơn có đặc tính khử. Người ta thường dùng dung dịch Phêlinh (có chứa CuO) để thử tính khử của đường đơn vì sẽ tạo thành kết tủa Cu_2O màu đỏ gạch.

$$\text{Glucozơ} + 2CuO \rightarrow Cu_2O\downarrow + \frac{1}{2}O_2$$

b) Các dạng đường đơn

Glucozơ (đường nho) có ở thực vật và động vật, fructozơ (đường quả) có nhiều ở thực vật, và galactozơ (có trong đường sữa) có trong sữa của động vật. Chúng cấu tạo chỉ gồm một phân tử và có công thức chung là $C_6H_{12}O_6$ nhưng chúng khác nhau ở sự sắp xếp các nguyên tử trong phân tử, do đó chúng có tính chất sinh học khác nhau.

Trong cơ thể, các đường đơn thường được sử dụng làm nhiên liệu cung cấp năng lượng cho tế bào, hoặc được sử dụng làm nguyên liệu để xây dựng nên các đường đôi hoặc đường phức.

1.2. Đường đôi (disaccarid)

a) Tính chất của đường đôi

Đường đôi được cấu tạo gồm 2 phân tử đường đơn cùng loại hoặc khác loại. Đường đôi cũng có vị ngọt và tan trong nước.

Khi 2 phân tử đường đơn liên kết với nhau để tạo nên 1 phân tử đường đôi sẽ có 1 phân tử H_2O được giải phóng.

$$\text{Glucozơ} + \text{Fructozơ} \rightarrow \text{Saccarozơ} + H_2O$$

b) Các dạng đường đôi. Các dạng đường đôi phổ biến là:

– Đường saccarozơ (đường mía) có nhiều trong thân cây mía và

trong củ cải đường, củ cà rốt, là loại đường mà hằng ngày chúng ta thường dùng.

– Đường lactozơ (đường sữa) có trong sữa động vật, được cấu tạo gồm 1 phân tử glucozơ và 1 phân tử galactozơ.

– Đường mantozơ (đường mạch nha) được cấu tạo gồm 2 phân tử glucozơ. Người ta chế biến đường mạch nha bằng cách lên men tinh bột. Đường đôi là đường ở dạng vận chuyển và được cơ thể dùng làm chất dự trữ cacbon và năng lượng.

1.3. Đường đa (polisaccarid)

Đường đa là các chất đa phân, chúng được cấu tạo gồm rất nhiều đơn phân (là các đường đơn) liên kết với nhau. Các đường đa thường gặp là tinh bột, glicogen và xenlulozơ. Đường đa không tan trong nước nên có thể tồn tại ở dạng dự trữ cacbon và năng lượng (ví dụ tinh bột ở thực vật và glicogen ở động vật), hoặc nguyên liệu cấu trúc (ví dụ xenlulozơ tạo nên thành ở tế bào thực vật).

a) Tinh bột

Tinh bột là dạng dự trữ cacbon và năng lượng của thực vật và là nguồn lương thực chủ yếu của con người. Tinh bột có nhiều trong hạt, củ thực vật.

Tinh bột được cấu tạo gồm nhiều phân tử glucozơ liên kết với nhau theo kiểu phân nhánh. Khi bị thuỷ phân bởi axit hoặc bởi enzim như amilaza và mantaza thì tinh bột sẽ bị phân giải thành glucozơ.

b) Glicogen: là dạng dự trữ cacbon và năng lượng của cơ thể động vật, có nhiều trong gan và cơ. Khi glicogen bị phân giải sẽ cho ra nhiều phân tử glucozơ để cung cấp nhiên liệu cho tế bào, khi cơ thể thừa glucozơ thì glucozơ sẽ được tổ hợp thành glicogen dự trữ trong gan và cơ.

c) Xenlulozơ: là dạng cacbohydrat phức tạp cấu tạo nên thành tế bào thực vật làm cho thực vật cứng chắc. Xenlulozơ được cấu tạo gồm nhiều đơn phân là glucozơ như tinh bột và glicogen, nhưng các phân tử glucozơ liên kết với nhau không theo kiểu phân nhánh mà thành sợi, tấm rất bền chắc. Cơ thể chúng ta không tiêu hoá được xenlulozơ nhưng chúng là thức ăn thô cần thiết cho hoạt động của ruột già và có tác dụng làm giảm nguy cơ ung thư ruột già. Một số vi sinh vật sống cộng sinh trong dạ cỏ trâu, bò có khả năng tiết ra enzim phân huỷ được xenlulozơ giúp cho trâu, bò tiêu hoá được cỏ.

II- LIPIT

2.1. Lipit: còn được gọi là chất béo, là hợp chất hữu cơ được cấu tạo gồm C, H và O nhưng khác với cacbohydrat ở chỗ trong lipit số lượng nguyên tử C và H nhiều so với O. Ví dụ, mỡ bò có công thức là $C_{57}H_{110}O_6$.

Lipit là chất kỵ nước, không tan trong nước mà tan trong các dung môi hữu cơ, ví dụ: axeton hoặc clorofoc. Lipit là dạng dự trữ nhiên liệu cho nhiều năng lượng hơn so với cacbohydrat (1g cacbohydrat cho 4,2kcalo, 1g lipit cho 9,3kcalo).

Lipit là hợp chất phức tạp, khi bị thuỷ phân sẽ cho ra hai thành phần là axit béo và glixerol. Trong phần lớn lipit có chứa ba phân tử axit béo và một phân tử glixerol nên thường gọi lipit là triglixerit.

Các dạng lipit thường gặp ở cơ thể động vật là mỡ, ví dụ: mỡ bò, mỡ lợn; còn ở cơ thể thực vật là dầu, ví dụ: dầu lạc, dầu dừa.

Ngoài vai trò là chất dự trữ nhiên liệu, lipit còn có vai trò là vật liệu xây dựng nên các cấu trúc của tế bào. Ví dụ, photpholipit là thành phần cấu tạo của tất cả các loại màng tế bào.

2.2. Các chất lipoit: là các hợp chất hữu cơ giống lipit ở chỗ chúng không tan trong nước mà tan trong dung môi hữu cơ. Trong cơ thể thuộc lipoit có colesteron là chất tham gia vào thành phần cấu tạo của màng tế bào. Khi hàm lượng colesteron quá nhiều chúng sẽ tích đọng trong mạch máu gây nên bệnh xơ cứng mạch, có thể dẫn đến đột quỵ tim. Ví dụ, thức ăn giàu colesteron như lòng đỏ trứng, não động vật, thức ăn nhanh nhiều chất béo... có thể gây xơ cứng mạch máu.

Các hoocmon sinh dục như testosteron (ở nam) và estrogen (ở nữ), cũng như một số vitamin như vitamin A, D, E và K đều thuộc chất lipoit.

III- PROTEIN

Protein là nhóm chất hữu cơ có trong cơ thể với hàm lượng nhiều nhất (chiếm trên 50% khối lượng khô của tế bào) và có vai trò đặc biệt quan trọng. Protein được cấu thành từ 4 nguyên tố chủ yếu là C, H, O và N. Nhiều protein còn chứa thêm S.

3.1. Cấu trúc protein

Protein là chất đại phân tử có khối lượng phân tử (M) đạt tới hàng nghìn đến hàng chục nghìn Da (dalton - đơn vị đo khối lượng

phân tử do nhà hóa học John Dalton đề nghị), và có cấu trúc rất phức tạp. Ví dụ, hemoglobin có khối lượng phân tử đạt tới 68.000 Da (hoặc 68 kDa).

Người ta phân biệt 4 bậc cấu trúc của protein.

a) Cấu trúc bậc 1: Protein là chất trùng hợp (polimer) được cấu tạo từ các đơn phân (đơn hợp - monomer) là axit amin.

Axit amin là phân tử có chứa nguyên tử C liên kết với 4 nhóm: nhóm thứ 1 là nhóm amin ($-NH_2$) nhóm thứ 2 là nhóm cacboxyl (-COOH) (nên có tên gọi là axit amin), nhóm thứ 3 là nhóm - H đều giống nhau ở tất cả các axit amin và nhóm thứ 4 được ký hiệu là R. Các axit amin khác nhau là ở thành phần của nhóm R (hình 1.4).

Hình 1.4. *Hai axit amin valin và alanin khác nhau ở nhóm R*

Người ta đã phát hiện được tất cả 20 loại axit amin trong thành phần của các loại protein ở các cơ thể khác nhau. Chúng khác nhau ở nhóm R (như vậy có 20 nhóm R khác nhau) (xem bảng 1.2).

Bảng 1.2. Các axit amin và tính chất của chúng

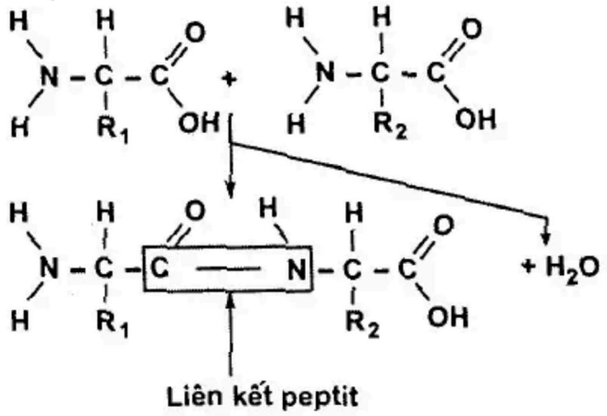
Tên axit amin	Viết tắt	Tính chất
Glixin (glycine)	Gly	Không phân cực, kỵ nước
Alanin (Alanine)	Ala	Không phân cực, kỵ nước
Valin (Valine)	Val	Không phân cực, kỵ nước
Lơxin (Leucine)	Leu	Không phân cực, kỵ nước
Izolơxin (Isoleucine)	Ile	Không phân cực, kỵ nước
Metionin (Methionine)	Met	Không phân cực, kỵ nước
Phenilalanin (Phenylalanine)	Phe	Không phân cực, kỵ nước
Triptophan (Tryptophan)	Trp	Không phân cực, kỵ nước
Prolin (Proline)	Pro	Không phân cực, kỵ nước
Xerin (Serine)	Ser	Phân cực, ưa nước

Tên axit amin	Viết tắt	Tính chất
Treonin (Treonine)	Thr	Phân cực, ưa nước
Xistein (Cysteine)	Cys	Phân cực, ưa nước
Tirozin (Tyrosine)	Tyr	Phân cực, ưa nước
Axparagin (Asparagine)	Asn	Phân cực, ưa nước
Glutamin (Glutamine)	Gln	Phân cực, ưa nước
Axit axpactic (Acid aspartic)	Asp	Tích điện (axit)
Axit glutamic (Acid glutamic)	Glu	Tích điện (axit)
Lizin (Lysine)	Lys	Tích điện (bazơ)
Acginin (Arginine)	Arg	Tích điện (bazơ)
Hixtiđin (Histidine)	His	Tích điện (bazơ)

Khi chúng ta ăn nhiều loại thức ăn đạm (protein) thực vật hay động vật, protein sẽ được tiêu hóa và phân giải thành các loại axit amin ở trong dạ dày và ruột non và chúng được hấp thụ vào cơ thể để sử dụng như là nguyên liệu khởi đầu xây dựng nên các loại protein đặc thù cho cơ thể chúng ta. Để xây dựng được đủ loại protein (ước tính có đến 100.000 loại trong cơ thể người) phục vụ cho hoạt động sống của cơ thể, cần cung cấp đủ 20 loại axit amin.

Về mặt dinh dưỡng học, người ta phân biệt loại axit amin thay thế và axit amin không thay thế. Các axit amin thay thế là các axit amin mà cơ thể động vật và con người có thể tự mình tổng hợp được, còn các axit amin không thay thế là các axit amin mà cơ thể động vật và cơ thể chúng ta không thể tự tổng hợp được mà phải thu nhận từ thức ăn. Đó là các axit amin sau: valin, lơxin, izolơxin, metionin, triptophan, treonin, lizin, phenilalanin (riêng đối với trẻ em còn có thêm hixtiđin). Thức ăn động vật (thịt, trứng, sữa...) có giá trị dinh dưỡng cao vì chứa nhiều axit amin không thay thế. Thức ăn thực vật có giá trị dinh dưỡng thấp vì chứa ít loại axit amin không thay thế. Đối với tuổi đang trưởng thành nên ăn đủ thức ăn động vật, không nên ăn chay vì có thể dẫn tới bị suy dinh dưỡng. Ngày nay nhờ công nghệ biến đổi gen, người ta đã tạo được nhiều giống cây lương thực chứa nhiều loại axit amin không thay thế (ví dụ ngô giàu lizin...).

Trong phân tử protein, các axit amin được nối với nhau bởi *liên kết peptit* là liên kết giữa nhóm COOH của một axit amin với nhóm NH_2 của axit amin bên cạnh (hình 1.5), tạo thành chuỗi thẳng, được gọi là chuỗi polipeptit.



Hình 1.5. *Liên kết peptit được tạo thành giữa 2 axit amin và giải phóng 1 phân tử nước*

Khi 2 phân tử axit amin liên kết với nhau bằng liên kết peptit (liên kết – CO – NH–) thì có 1 phân tử H_2O được tạo thành và hợp chất gồm 2 axit amin được gọi là dipeptit. Nếu có 3 axit amin được gọi là tripeptit và nếu trong chuỗi có một số ít axit amin được gọi là oligopeptit (ví dụ *oxitoxin* có 9 axit amin), nếu có rất nhiều axit amin sẽ được gọi là polipeptit. Trung bình chuỗi polipeptit có từ 100 - 1000 axit amin. Protein *titin* có trong sợi cơ vân là chuỗi polipeptit dài nhất được tìm thấy hiện nay có 25000 axit amin. Chiều của chuỗi polipeptit bao giờ cũng bắt đầu bằng nhóm amin và kết thúc bằng nhóm cacboxyl.

Số lượng, thành phần và trình tự sắp xếp của các axit amin trong chuỗi polipeptit thể hiện cấu trúc bậc 1 của protein. Cấu trúc bậc 1 của protein có vai trò rất quan trọng: xác định nên tính đặc thù và đa dạng của protein, đồng thời quy định cấu trúc bậc 2 và bậc 3 của protein.

Với 20 loại axit amin khác nhau có thể tổ hợp nên vô vàn protein khác nhau. Ví dụ, với dipeptit (có 2 axit amin) có thể tạo nên 20 x 20 = 20^2 = 400 loại dipeptit khác nhau, nếu là tripeptit (có 3 axit amin) có thể tạo nên 20 x 20 x 20 = 20^3 = 8000 loại tripeptit khác nhau, với protein có 100 axit amin có thể tạo nên 20^{100} loại protein khác nhau. Trong cơ thể sống, độ đa dạng của protein là ít hơn nhiều, ví dụ, đối với cơ thể người chỉ tìm thấy khoảng 100.000 loại protein khác nhau mà thôi.

Sai lệch trong trình tự sắp xếp của các axit amin trong chuỗi polipeptit sẽ dẫn đến biến đổi cấu trúc và hoạt tính của protein và có thể gây nên bệnh tật cho cơ thể. Ví dụ, điển hình là bệnh thiếu máu

hồng cầu hình liềm ở người là do sai lệch trong trình tự sắp xếp của chỉ 1 axit amin (axit amin ở vị trí thứ 6 trong số 146 axit amin của chuỗi β của hemoglobin bình thường (– HbA) - là axit glutamic bị thay thế bởi axit amin valin dẫn đến biến đổi HbA ở người bình thường thành HbS ở người bệnh) dẫn đến làm sai lệch phân tử hemoglobin (liên kết với nhau thành sợi), sai lệch hồng cầu (có dạng hình liềm thay cho hình cầu) và do đó làm giảm chức năng chuyên chở oxy, gây nên bệnh thiếu máu.

HbA-> Valin - Hixtidin - Lơxin - Treonin - Prolin - *Axit glutamic* - Axit glutamic-

1 2 3 4 5 6 7

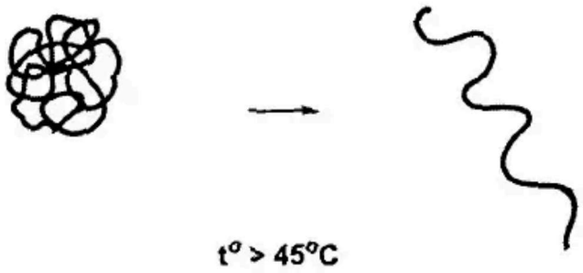
HbS -> Valin - Hixtidin - Lơxin - Treonin - Prolin-*Valin* –Axit glutamic -

b) Cấu trúc bậc 2 và bậc 3. Cấu trúc bậc 2 và bậc 3 của protein là thể hiện cấu trúc không gian 3 chiều của protein.

Chuỗi polipeptit thường không ở dạng thẳng mà xoắn lại tạo nên cấu trúc xoắn α hoặc gấp khúc tạo nên gấp β. Đó là cấu trúc bậc 2 của protein. Các xoắn α và gấp β được cố định bởi các liên kết hydro giữa nhóm N – H và nhóm C = O của các axit amin trong chuỗi polipeptit. Các protein sợi như keratin tạo nên lông, tóc... gồm nhiều xoắn α. Các gấp β có trong các protein cầu, nhưng cũng có mặt trong các protein sợi, ví dụ, sợi tơ nhện với rất nhiều liên kết hydro tạo cho tơ nhện có độ bền hơn sợi thép.

Các xoắn α và gấp β lại có thể cuộn với nhau tạo thành búi có cấu hình không gian 3 chiều đặc trưng cho từng loại prơtein, đó là cấu trúc bậc 3 của protein. Cấu trúc hình thù không gian quyết định hoạt tính chức năng của protein. Khi protein mất cấu trúc không gian và trở thành dạng thẳng, người ta nói chúng bị biến tính (hình 1.6) và khi đó chúng mất hoạt tính. Ví dụ, khi có tác động của nhiệt độ cao (trên 45^0C), hoặc do độ pH không thích hợp thì protein có thể bị biến tính và trở nên mất hoạt tính chức năng. Nếu đem luộc, lòng trắng trứng sẽ trở nên trắng đục vì protein albumin bị biến tính trở thành trạng thái rắn và không tan trong nước. Khi bệnh nhân bị sốt cao có thể nguy hiểm vì nhiều protein trong máu bị biến tính. Trong nhiều trường hợp, nếu điều kiện thích hợp protein sẽ khôi phục lại cấu trúc không gian.

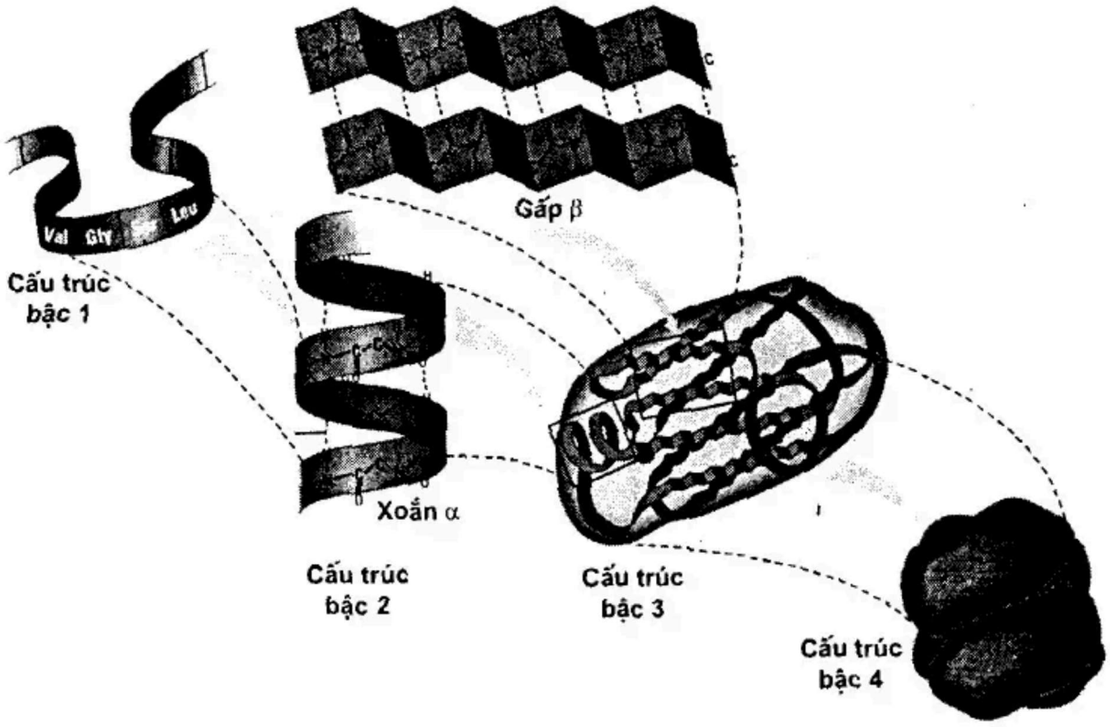
Sự tạo thành cấu trúc không gian từ chuỗi polipeptit là có sự tham gia của một loại protein được gọi là protein *chaperon*. Trong trường hợp bị sốc nhiệt, cơ thể sản sinh ra loại *protein sốc nhiệt* (là một loại chaperon) để ngăn cản sự biến tính và duy trì hoạt động của protein.



A. Dạng búi *B. Dạng biến tính*

Hình 1.6. *Protein bị biến tính ở nhiệt độ cao*

Khi protein có từ 2 chuỗi polipeptit trở lên chúng có cấu trúc bậc 4. Ví dụ, phân tử hemoglobin có 2 chuỗi α và 2 chuỗi β. Sơ đồ hình 1.7 cho thấy các bậc cấu trúc của protein.



Hình 1.7. *Các cấp độ cấu trúc của protein*

3.2. Chức năng của protein

Danh từ protein có xuất xứ từ tiếng Hy Lạp "Proteios" có nghĩa là (đầu tiên) với hàm ý là chất có vai trò sinh học quan trọng bậc nhất trong cơ thể. F. Engels đã từng phát biểu: *sự sống là phương thức tồn tại của thể protein.*

a) Các loại protein

Người ta phân biệt protein cầu và protein sợi. Ví dụ, albumin,

globulin có trong máu là protein cầu, còn conlagen tạo nên gân và dây chằng là protein sợi, protein keratin tạo nên lông, tóc, protein tạo nên tơ nhện là protein sợi. Protein có thể liên kết với các chất khác tạo nên các hợp chất phức tạp của tế bào, ví dụ: các lipoprotein (protein liên kết với lipit), glicoprotein (protein liên kết với cacbohydrat), chromoprotein (protein liên kết chất sắc tố, ví dụ, hemoglobin).

b) Chức năng của protein

Trong tế bào và cơ thể sống, protein có chức năng là công cụ của hoạt động sống (bảng 1.3).

Bảng 1.3. Chức năng của protein trong cơ thể

Loại protein	Chức năng	Ví dụ
Protein cấu trúc	Cấu trúc, nâng đỡ.	Conlagen và elastin tạo nên cấu trúc sợi rất bền của mô liên kết, dây chằng, gân. Keratin tạo cấu trúc chắc của da, lông, móng. Protein tơ nhện, tơ tằm tạo nên độ bền vững của mạng nhện, vỏ kén.
Protein enzim	Xúc tác sinh học: tăng nhanh, chọn lọc các phản ứng sinh hóa.	Các enzim thủy phân trong dạ dày phân giải thức ăn: amilaza phân giải tinh bột, pepsin phân giải protein, lipaza phân giải lipit.
Protein hoocmon	Điều hòa các hoạt động sinh lý.	Insulin và glucagon do đảo tụy tiết ra có tác dụng điều hòa hàm lượng glucozơ trong máu động vật có xương sống.
Protein vận chuyển	Vận chuyển các chất.	Hemoglobin chứa trong hồng cầu động vật có xương sống có vai trò vận chuyển oxy từ phổi qua dòng máu đến các tế bào.
Protein vận động	Vận động.	Actin, miozin có vai trò vận động cơ. Tubulin có vai trò vận động lông, roi.
Protein bảo vệ	Bảo vệ cơ thể chống bệnh tật.	Interferon chống virut. Kháng thể chống vi khuẩn gây bệnh.
Protein thụ quan	Cảm nhận, đáp ứng các kích thích của môi trường.	Thụ quan màng của tế bào thần kinh nhận biết các tín hiệu hóa học do các tế bào thần kinh khác tiết ra (chất trung gian thần kinh) và dẫn truyền tín hiệu.
Protein dự trữ	Dự trữ nguồn axit amin, dự trữ nhiên liệu.	Albumin lòng trắng trứng là nguồn cung cấp axit amin cho phôi phát triển. Casein trong sữa mẹ là nguồn cung cấp axit amin cho con. Trong hạt cây có chứa nguồn protein dự trữ cần cho hạt nảy mầm.

Trong cơ thể, protein luôn được đổi mới, luôn bị phân hủy và luôn được tổng hợp mới. Cơ thể chúng ta cần thức ăn protein để sinh trưởng và phát triển. Trong dạ dày và ruột non, thức ăn protein bị enzim tiêu

hoá thuỷ phân thành các axit amin, axit amin được cơ thể hấp thụ và được tế bào dùng để xây dựng nên các loại protein khác nhau. Protein được tổng hợp trong tế bào trên riboxom theo mã di truyền chứa trong các gen thông qua quá trình phiên mã (tổng hợp mARN) và dịch mã (tổng hợp protein). Protein có thể bị phân giải nhờ các enzim proteaza có trong bào tương, hoặc trong các proteaxom bằng con đường ubiquytin hóa (protein được gắn kết với protein ubiquytin và được đưa vào proteaxom, ở đây protein sẽ bị phân giải bởi các enzim proteaza), hoặc trong các lizoxom nhờ các enzim có trong lizoxom.

IV- AXIT NUCLEIC

Axit nucleic là hợp chất hữu cơ có tính axit và được chiết xuất từ nhân tế bào (nucleus) nên có tên gọi là axit nucleic. Axit nucleic là hợp chất đại phân tử có vai trò đặc biệt quan trọng đối với cơ thể sống vì chúng là vật chất mang thông tin di truyền. Có hai loại axit nucleic là axit deoxiribonucleic (ADN) và axit ribonucleic (ARN).

4.1. Cấu trúc của axit nucleic

Nucleotit - đơn phân của axit nucleic:

Nucleotit được cấu tạo gồm 3 thành phần là bazơ nitơ, đường 5 cacbon và axit photphoric (hình 1.8).

Người ta phân biệt hai loại nucleotit: deoxiribonucleotit (cấu tạo nên ADN) trong thành phần có đường deoxiribozơ và 4 loại bazơ nitơ là adenin (A), timin (T), xitozin (X) và guanin (G); ribonucleotit (cấu tạo nên ARN) trong thành phần có đường ribozơ và 4 loại bazơ nitơ là adenin (A), uraxin (U), xitozin (X) và guanin (G) (bảng 1.4)

Bảng 1.4. Cấu trúc khác nhau của ADN và ARN

	ADN	ARN
Thành phần bazơ nitơ	A, T, X, G	A, U, X, G
Thành phần đường	deoxiribozơ ($C_5H_{10}O_4$)	ribozơ ($C_5H_{10}O_5$)

4.2. Cấu trúc của ADN

a) Cấu trúc chuỗi đơn của ADN

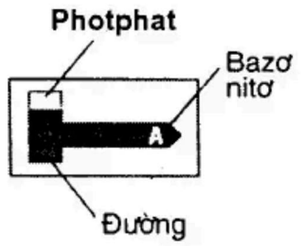
Trong phân tử ADN các deoxiribonucleotit liên kết với nhau nhờ liên kết hoá trị giữa axit photphoric của nucleotit này với đường của

nucleotit tiếp theo (được gọi là liên kết photphodieste) và tạo nên chuỗi polinucleotit (hình 1.9).

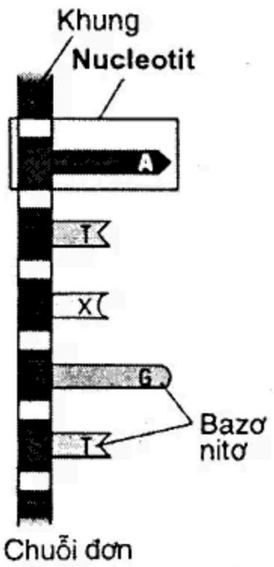
Số lượng, thành phần và trình tự sắp xếp của các nucleotit trong chuỗi polinucleotit thể hiện cấu trúc bậc một của ADN, quy định nên tính đặc thù và đa dạng của ADN, là cơ sở tạo nên các gen khác nhau chứa mã di truyền khác nhau. Với 4 loại nucleotit A, T, X và G có thể tổ hợp nên vô vàn loại ADN (tức là gen) khác nhau trong cơ thể sống.

b) Cấu trúc chuỗi xoắn kép ADN

Trong tế bào, phân tử ADN thường tồn tại ở dạng chuỗi xoắn kép. Đó là cấu trúc bậc hai của phân tử ADN. Năm 1953 hai nhà khoa học là J. Watson (người Mỹ) và F. Crick (người Anh) đã đề xuất mô hình không gian của phân tử ADN (hình 1.10). Mô hình chuỗi xoắn kép ADN của Watson-Crick có các đặc điểm sau đây:



Hình 1.8. *Cấu tạo của nucleotit*



Hình 1.9. *Cấu trúc chuỗi đơn polinucleotit*

– Chuỗi xoắn kép ADN gồm hai chuỗi đơn polinucleotit xoắn quanh một trục (giả định) theo chiều từ trái sang phải giống như một chiếc thang trong đó hai tay thang (khung) là các phân tử đường và axit photphoric liên kết xen kẽ nhau, còn mỗi bậc thang là một cặp bazơ nitơ liên kết ngang tạo thành.

– Các bazơ nitơ liên kết ngang với nhau nhờ liên kết hydro và theo nguyên tắc bổ sung: A liên kết với T bởi hai liên kết hydro (A=T); X liên kết với G bởi ba liên kết hydro (X ≡ G). Như vậy, nếu ta biết được trình tự các nucleotit của một chuỗi đơn này ta sẽ biết được trình tự sắp xếp của các nucleotit trong chuỗi đơn kia (bổ sung).

– Hai chuỗi đơn polinucleotit xoắn theo hai hướng ngược chiều nhau: một chuỗi theo hướng 3' - 5', còn chuỗi đối diện theo hướng ngược lại 5' - 3'. Ví dụ:

3' - A - A - T - G - X - X - A - T - 5' (chuỗi 1)

5' - T - T - A - X - G - G - T - A - 3' (chuỗi 2)

– Đường kính chuỗi xoắn kép là 2nm, mỗi vòng xoắn gồm 10 cặp nucleotit và dài 3,4nm (1nm = 10 Å).

4.3. Cấu trúc của ARN

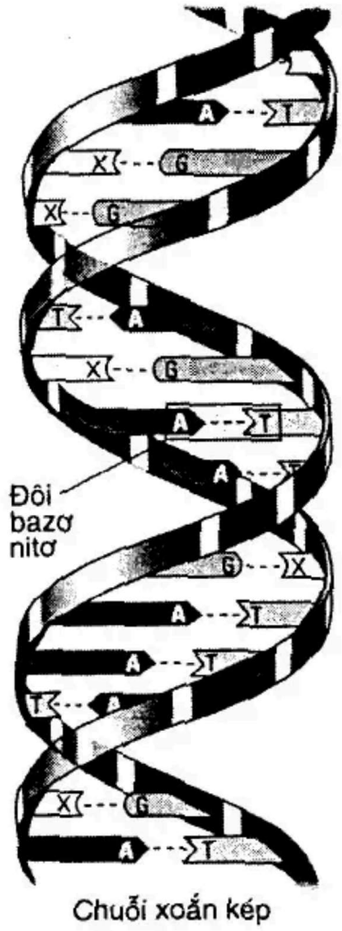
Phân tử ARN thường ở dạng chuỗi đơn polinucleotit gồm nhiều đơn phân ribonucleotit (thuộc 4 loại A, U, X, G) liên kết với nhau nhờ liên kết photphodieste giữa đường ribozơ và axit photphoric.

Người ta phân biệt ba loại ARN chủ yếu:

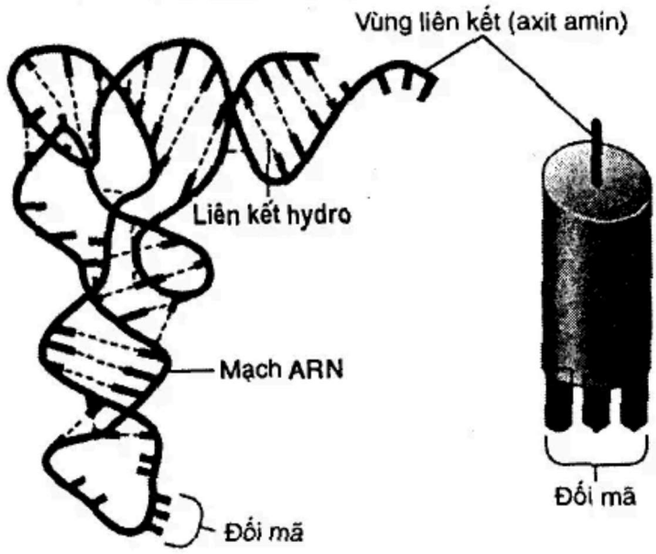
a) ARN thông tin (mARN) được phiên mã từ các gen trong ADN, có cấu trúc chuỗi đơn, độ dài thay đổi tuỳ theo độ dài của gen mà chúng được phiên mã.

b) ARN riboxom (rARN) được phiên mã từ ADN, có cấu trúc chuỗi đơn. rARN gồm vài loại khác nhau tạo nên đơn vị lớn và đơn vị bé của riboxom.

c) ARN vận chuyển (tARN) được phiên mã từ ADN, là chuỗi đơn nhưng có cấu trúc phức tạp gồm nhiều búi và đoạn cặp đôi bổ sung (A = U, X ≡ G). Ở một đầu của phân tử có mang bộ ba nucleotit (bộ ba đối mã) bổ sung với bộ ba mã của khuôn mARN và đầu đối diện có vị trí để gắn với axit amin đặc hiệu (hình 1.11).



Hình 1.10. Sơ đồ cấu trúc của sợi xoắn kép ADN



Hình 1.11. Sơ đồ cấu trúc của phân tử tARN

4.4. Chức năng của axit nucleic

a) Chức năng của ADN: ADN có các chức năng quan trọng sau:

– ADN là vật chất mang thông tin di truyền tích trong các mã bộ ba nucleotit (codon). Trình tự của các codon trong chuỗi ADN quy định trình tự các axit amin trong chuỗi polipeptit.

– ADN có chức năng truyền thông tin di truyền qua thế hệ thông qua sự sao chép (tái bản) phân tử ADN mẹ thành hai phân tử ADN con giống nhau (theo nguyên tắc khuôn và bổ sung), và thông qua sự phân ly của hai ADN con về hai tế bào con khi phân bào.

– ADN có chức năng phiên mã cho ra các ARN, từ đây sẽ dịch mã để tạo nên protein đặc thù và tạo nên tính trạng đa dạng của sinh vật.

b) Chức năng của ARN. ARN có chức năng rất đa dạng:

- ARN được dùng là vật chất mang thông tin di truyền (đối với một số virut, ví dụ, virut HIV).

- ARN có chức năng trong sự dịch mã để tạo nên các protein đặc thù.

+ mARN là khuôn chứa mã di truyền của gen. mARN được định vị trên riboxom và được dùng làm khuôn để lắp ráp các axit amin tạo nên chuỗi polipeptit đúng như gen quy định.

+ rARN tạo nên riboxom là nơi tổng hợp protein.

+ tARN có chức năng vận chuyển các axit amin để lắp ráp thành chuỗi polipeptit đúng với mã trong khuôn mARN.

– Ngoài ra người ta còn tìm thấy loại ARN có khối lượng phân tử rất bé có chức năng xúc tác sinh học được gọi là ribozim và loại ARN có vai trò điều chỉnh hoạt động của gen.

C- LIÊN KẾT HOÁ HỌC VÀ VAI TRÒ CỦA CHÚNG TRONG CƠ THỂ SỐNG

Trong cơ thể sống các nguyên tố hoá học thường liên kết với nhau tạo nên các phân tử, các hợp chất hữu cơ phức tạp là nhờ các liên kết hoá học. Các liên kết hoá học không chỉ có vai trò duy trì cấu trúc của cơ thể sống mà còn duy trì các hoạt động chức năng của tế bào cũng như cơ thể.

I- ĐẶC ĐIỂM CỦA CÁC LIÊN KẾT HOÁ HỌC

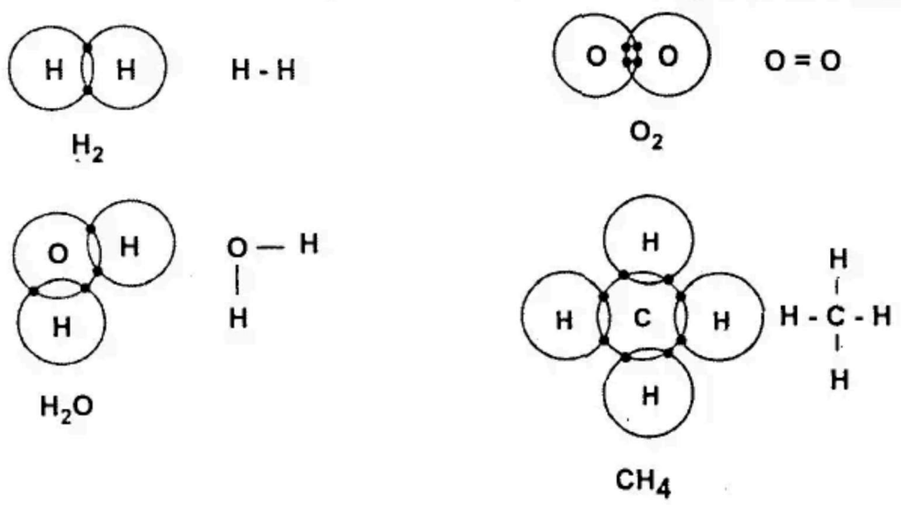
Khi các nguyên tử có số điện tử hoá trị ở cạnh nhau sẽ tạo nên lực hút và chúng sẽ liên kết với nhau, mối liên kết đó được gọi là liên kết hoá học.

1.1. Các loại liên kết và đặc điểm

Tuỳ vào đặc điểm liên kết, người ta chia thành 2 loại: liên kết bền vững và liên kết yếu.

a) Liên kết bền vững. Liên kết bền vững thường gặp nhất là liên kết cộng hoá trị. Liên kết cộng hoá trị được tạo thành khi các nguyên tử cùng loại hoặc khác loại cùng góp chung điện tử với nhau.

Hình 1.12 chỉ ra số điện tử chung nhau trong các liên kết sau.



Hình 1.12. *Liên kết cộng hoá trị*

Để tạo được liên kết bền vững đòi hỏi cung cấp nhiều năng lượng. Số năng lượng này nhiều hay ít tuỳ thuộc vào độ bền vững của liên kết, có thể thay đổi từ 15-170 kcal/mol. Ví dụ, liên kết cộng hoá trị C - C có năng lượng liên kết là 83 kcal/mol và khi liên kết này bị phá vỡ cũng sẽ có bằng ấy năng lượng được giải phóng.

b) Liên kết yếu

Liên kết yếu là những liên kết được tạo thành giữa các phân tử, các phức hợp phân tử cũng như các cấu trúc của tế bào cần rất ít năng lượng (chỉ khoảng 1-5 kcal/mol) và có thể thay đổi tuỳ theo trạng thái hoạt động của cơ thể cũng như môi trường. Thường người ta phân biệt bốn loại liên kết yếu sau đây:

- Liên kết hydro là liên kết yếu có năng lượng liên kết chỉ vào khoảng 5 kcal/mol, được hình thành giữa một nguyên tử mang điện tích âm (nguyên tử nhận (A) thường là oxy hoặc nitơ)) và một nguyên tử hydro (H) đang liên kết cộng hoá trị với một nguyên tử khác (nguyên tử cho-D):

$$D - H + A \rightarrow \underset{\text{Liên kết hydro}}{D - H \ldots \ldots A}$$

Ví dụ liên kết hydro giữa các phân tử nước (xem phần tính chất

của nước ở phần trên), liên kết hydro giữa phân tử nước (H_2O) và phân tử ammonia (NH_3)

- Liên kết ion là liên kết được tạo thành do sự tương tác tĩnh điện giữa hai nhóm mang điện tích ngược dấu. Trong môi trường không có nước, các liên kết ion rất bền vững, nhưng trong cơ thể và môi trường nước các liên kết ion là liên kết yếu, bởi vì các cation cũng như anion luôn được vây bọc bởi các phân tử nước tạo nên lớp vỏ làm cho chúng không thể liên kết với các anion và cation khác được.

- Liên kết Vanđe Van là liên kết yếu được tạo nên do lực tương tác không đặc hiệu khi hai nguyên tử tiến đến gần nhau. Liên kết Vanđe Van không phụ thuộc vào tính phân cực của các phân tử mà chỉ phụ thuộc vào khoảng cách giữa chúng. Liên kết Vanđe Van là liên kết yếu nhất (khoảng 1kcal/mol). Liên kết Vanđe Van có trong cấu trúc bậc ba của protein. (Con thạch sùng có thể chạy được trên mặt phẳng tường nhà là nhờ có lực Vanđe Van tạo nên giữa hàng trăm nghìn lông tơ nhỏ của bàn chân thạch sùng với các phân tử của bề mặt tường nhà).

- Liên kết kỵ nước là liên kết được tạo thành giữa các phân tử không hoà tan trong nước khi chúng ở gần nhau. Nhờ liên kết kỵ nước nên các phân tử không phân cực bị loại trừ ra khỏi mạng nước.

II- VAI TRÒ CỦA CÁC LIÊN KẾT HOÁ HỌC

2.1. Vai trò của các liên kết bền vững

Nhờ có các liên kết bền vững nên các phân tử, các phức hợp phân tử cũng như các cấu trúc của tế bào mới duy trì được độ ổn định và bền vững trong môi trường luôn thay đổi. Các liên kết cộng hoá trị như liên kết glicozit, liên kết peptit, liên kết este... có vai trò quan trọng thành lập các đa hợp phân tử và duy trì cấu trúc của chúng.

2.2. Vai trò của các liên kết yếu

Cơ thể sống không chỉ có tính ổn định cao mà đồng thời có tính mềm dẻo lớn. Do đặc tính dễ tạo thành cũng như dễ phá vỡ không cần nhiều năng lượng, cho nên các liên kết yếu là cơ sở của tính mềm dẻo của các cấu trúc cũng như của các phản ứng (tạo nên cấu trúc không gian của protein, của axit nucleic, thành lập mối tương tác giữa các phân tử). Cấu trúc xoắn α và gấp β của protein là nhờ liên kết hydro giữa các axit amin tương ứng. Liên kết hydro giữa các bazơ nitơ A – T và X – G tạo nên sợi xoắn kép ADN. Tương tác giữa enzim và cơ chất để tạo thành phức hợp enzim - cơ chất, giữa hoocmon và thụ quan màng là nhờ liên kết ion...

PHẦN II

CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA TẾ BÀO

Chương II

TẾ BÀO TẾ BÀO NHÂN SƠ VÀ TẾ BÀO NHÂN CHUẨN

I- HAI DẠNG TỒN TẠI CỦA TẾ BÀO

Như phần trên đã trình bày, tế bào là đơn vị cơ bản của cơ thể sống về cấu trúc và chức năng, tất cả các cơ thể sống đều có cấu tạo tế bào thuộc 2 dạng: tế bào nhân sơ (Procaryota) và tế bào nhân chuẩn (Eucaryota). Virut không có cấu tạo tế bào, virut có phải là cơ thể sống không? Virut có nguồn gốc từ đâu?

1.1. Khái niệm về virut

Từ trước tới nay có ba quan điểm về vị trí của virut trong thế giới sống.

– Quan điểm thứ nhất cho rằng virut tồn tại như một dạng sống trung gian trong bước chuyển tiếp từ vật chất chưa sống sang vật chất sống, tức là từ phức hệ đại phân tử sang tế bào.

– Quan điểm thứ hai cho rằng virut là dạng thoái hoá của một dạng vi khuẩn do đời sống siêu ký sinh của chúng trong tế bào.

– Quan điểm thứ ba được đa số các nhà sinh học công nhận, nhất là dưới ánh sáng của di truyền học phân tử và gen học, cho rằng nguồn gốc của virut là một đoạn ADN hoặc ARN chứa một số gen nhất định bị tách ra từ hệ gen (genom) của tế bào và lại được chuyển nạp vào tế bào, và chúng hoạt động trong tế bào vật chủ như một dạng ký sinh phân tử, và nếu tách khỏi tế bào, chúng sẽ không tồn tại vì sẽ bị phân huỷ cũng giống như các gen nào đó của tế bào, nếu được các nhà công nghệ gen tách chiết ra khỏi tế bào và được chuyển vào một loại tế bào khác thì chúng cũng hoạt động như một virut thực thụ. Cả gen được tách chiết, cả virut nếu không được cất giữ trong điều kiện bảo quản thì chúng sẽ bị phân huỷ và chúng chỉ có

thể hoạt động sống trong điều kiện của tế bào sống, hoặc trong điều kiện nhân tạo do con người tạo ra giống như trong tế bào.

Virut chưa có cấu tạo tế bào nên chưa được xem là cơ thể sống. Virut là một dạng sống có cấu tạo gồm một số gen (ADN hoặc là ARN) chứa thông tin di truyền của virut và một vỏ bọc protein bảo vệ được gọi là capsit. Ngoài ra đối với một số virut, còn có lớp màng lipoprotein giống với màng sinh chất bao ở phía ngoài vỏ capsit. Virut sống ký sinh bắt buộc trong tế bào (vi khuẩn, thực vật, động vật, con người), chúng sử dụng bộ máy trao đổi chất của tế bào chủ để nhân lên thành nhiều virut. Trong tế bào vật chủ, ADN (hoặc ARN đã được phiên mã ngược thành ADN) của virut có thể xâm nhập và gắn vào hệ gen (ADN) của tế bào chủ ở trạng thái tiềm sinh. Chúng được tái bản mã cùng với sự tái bản mã của hệ gen tế bào chủ, và truyền sang các tế bào con cháu. Virut là tác nhân gây nhiều bệnh nguy hiểm cho cây trồng, vật nuôi và con người (ví dụ bệnh khảm đốm ở thuốc lá, bệnh vàng lụi ở cà chua, bệnh dại ở chó, bệnh viêm gan B, bệnh AIDS ở người).

Hiện nay đa số các nhà sinh học cho rằng, virut có nguồn gốc từ hệ gen của tế bào. Lớp màng sinh chất có ở một số virut có nguồn gốc từ màng sinh chất của tế bào vật chủ. Ví dụ, virut HIV có lớp màng lipoprotein bao ở ngoài vỏ capsit là di tích của lớp màng sinh chất của tế bào limpho. Nghiên cứu về virut không chỉ có tầm quan trọng đối với Y học vì chúng là tác nhân gây nên nhiều bệnh nguy hiểm, mà còn có tầm quan trọng trong sự phát triển của Sinh học tế bào cũng như của Sinh học phân tử.

Các cơ thể sống được cấu tạo từ một trong hai dạng tế bào: nhân sơ hoặc nhân chuẩn.

1.2. Tế bào nhân sơ và tế bào nhân chuẩn

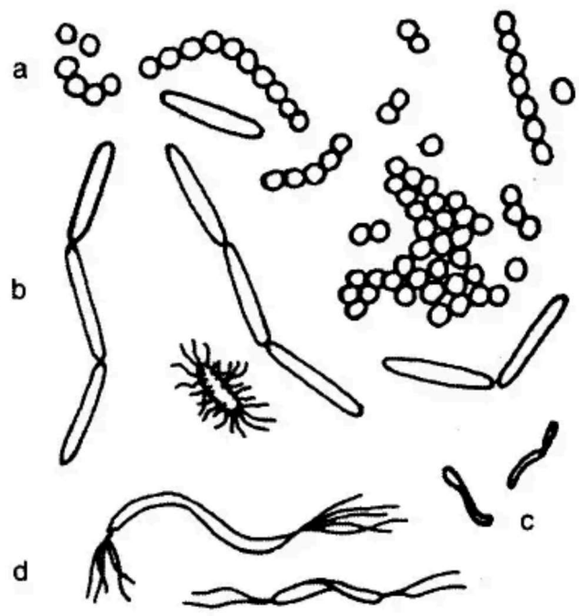
Tuỳ theo độ phức tạp về cấu trúc, người ta phân biệt hai dạng tế bào: tế bào nhân sơ (Procaryota, pro - sơ khai, caryon - nhân) cấu tạo nên cơ thể vi khuẩn và tế bào nhân chuẩn (Eucaryota, eu - thực, caryon - nhân) cấu tạo nên cơ thể động vật đơn bào, tảo, nấm, thực vật và động vật.

II- TẾ BÀO VI KHUẨN

Vi khuẩn rất đa dạng nhưng đều thuộc dạng tế bào nhân sơ và có những đặc điểm cấu tạo chung. Ở đây chúng ta xem xét cấu trúc của tế bào vi khuẩn điển hình.

2.1. Hình dạng tế bào vi khuẩn

Đa số vi khuẩn là đơn bào, cơ thể của chúng chỉ gồm một tế bào, có kích thước trung bình 1 - 3µm. Các tế bào riêng lẻ có thể liên kết với nhau tạo thành chuỗi hoặc nhóm nhỏ. Tế bào vi khuẩn rất đa dạng có thể là hình cầu (cầu khuẩn), hình phẩy (phẩy khuẩn), hình que (trực khuẩn), hình xoắn (xoắn khuẩn) (hình 2.1)



Hình 2.1. *Hình dạng một số loại vi khuẩn*
a) Cầu khuẩn; b) Trực khuẩn;
c) Phẩy khuẩn; d) Xoắn khuẩn.

2.2. Cấu tạo tế bào vi khuẩn

Tế bào vi khuẩn gồm những thành phần chính: thành tế bào, màng sinh chất, tế bào chất và thể nhân (nucleoid).

a) Thành tế bào

Thành tế bào vi khuẩn có độ dày từ 10-20nm và được cấu tạo bởi chất peptidoglican (bao gồm polisaccarit liên kết với peptit). Tuỳ theo cấu tạo của lớp peptidoglican mà thành tế bào có tính chất nhuộm màu phân biệt với thuốc nhuộm Gram (do nhà vi khuẩn học Christian Gram phát kiến), người ta phân biệt hai loại vi khuẩn Gram dương (G^+) và vi khuẩn Gram âm (G^-). Sự khác biệt này có tầm quan trọng trong việc sử dụng các loại kháng sinh đặc hiệu để chống từng nhóm vi khuẩn gây bệnh.

Ở một số loài vi khuẩn, bao bọc ngoài thành tế bào còn có lớp vỏ bọc nhày dày, mỏng khác nhau, có chức năng khác nhau.

b) Màng sinh chất

Tiếp ngay dưới thành tế bào là màng sinh chất hay màng lipoprotein chứa khoảng 45% lipit và 55% protein, có cấu trúc và chức năng tương tự màng sinh chất của tế bào nhân chuẩn mà ta sẽ xem xét ở các phần sau.

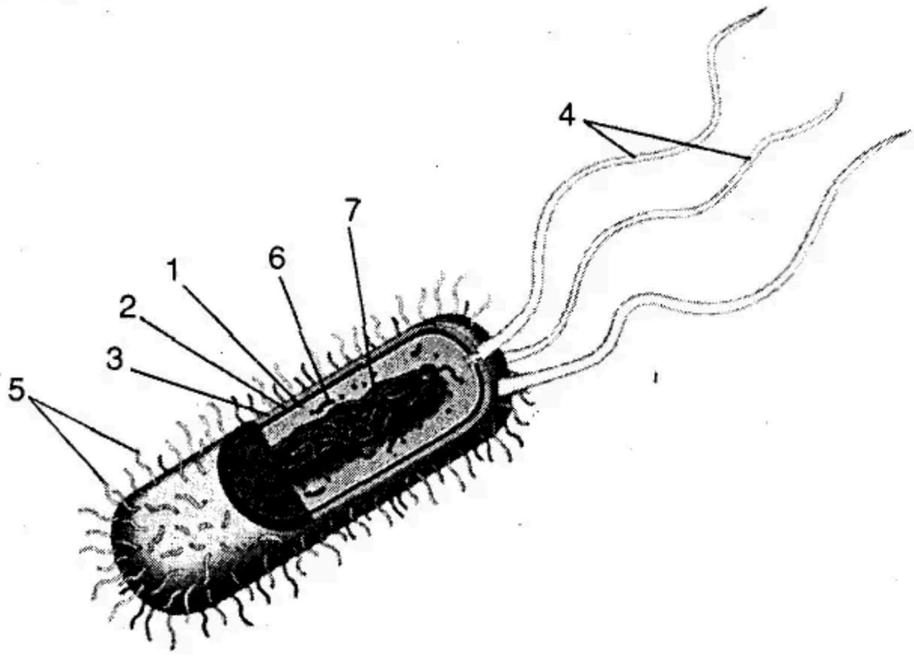
c) Tế bào chất của tế bào vi khuẩn

Phía trong màng sinh chất là khối tế bào chất chứa tới 65-90% nước, các chất vô cơ và hữu cơ khác nhau. Phân bố trong tế bào chất

có nhiều riboxom (từ 10.000-100.000) là loại bào quan rất bé có hằng số lắng 70S (S là hằng số lắng - đơn vị đo khối lượng bằng ly tâm siêu tốc) có chức năng là nơi tổng hợp protein của vi khuẩn. Trong tế bào chất xảy ra các quá trình trao đổi chất và năng lượng như quá trình tổng hợp protein, quá trình đường phân để tích lũy ATP. Nhiều chỗ màng sinh chất gấp nếp lồi lõm vào tế bào chất tạo nên các *mezoxom* được xem như một loại bào quan có vai trò trong sự phân bào, hoặc hô hấp hiếu khí (khi trong mezoxom có chứa các enzim cần cho hô hấp hiếu khí ở vi khuẩn hiếu khí), hoặc quang hợp (khi mezoxom biến thành tilacoit chứa chlorophin như ở vi khuẩn lam).

d) Nucleoit và nhiễm sắc thể của vi khuẩn

Nhiễm sắc thể của vi khuẩn là phân tử ADN trần (không liên kết với histon), là chuỗi xoắn kép dạng vòng khu trú ở vùng tế bào chất được gọi là thể nhân - nucleoit (nucleoid – từ *nucleus* là nhân và *oid* là tương tự) (hình 2.2).



Hình 2.2. *Sơ đồ cấu tạo của tế bào vi khuẩn Escherichia coli*
1. Màng sinh chất; 2. Thành peptidoglican; 3. Vỏ nhày;
4. Roi; 5. Lông; 6. Riboxom; 7. ADN trần dạng vòng.

Trong tế bào chất, ngoài ADN trong nucleoit, còn có một số phân tử ADN khác được gọi là plasmit chứa thông tin di truyền quy định một số đặc tính của vi khuẩn, như tính kháng thuốc chẳng hạn. Plasmit của một vi khuẩn này có khả năng tải nạp sang các vi khuẩn khác, vì vậy các nhà kỹ thuật di truyền sử dụng plasmit như một vectơ để chuyển tải gen tái tổ hợp từ tế bào này sang tế bào khác. Hệ

gen của vi khuẩn không chứa các đoạn intron là đoạn ADN gồm nucleotit không mã hóa cho axit amin và không được dịch mã.

Nhiều loại vi khuẩn chuyển động nhờ roi hoặc lông có cấu tạo đơn giản gồm loại protein flagelin.

Ngày nay người ta tìm thấy dạng vi khuẩn cổ (Archaea) tuy thuộc dạng tế bào nhân sơ nhưng chúng có nhiều đặc điểm khác biệt với vi khuẩn như:

– Thành tế bào không có cấu tạo peptidoglican.

– Trong hệ gen có các đoạn intron như hệ gen của tế bào nhân chuẩn, cơ chế tái bản mã giống nhân chuẩn.

– Trong tế bào vi khuẩn cổ có chứa hệ protein PACE (**P**rotein for **A**rchae **C**onserved in **E**ucaryota) giống với tế bào nhân chuẩn.

– Vi khuẩn cổ sống trong các môi trường rất khắc nghiệt như ở nhiệt độ rất cao (100^{0}C), hoặc rất thấp (0^{0}C), hoặc ở độ muối rất cao (25%), độ axit cao (pH = 1), áp suất lớn ở đáy đại dương, phương thức dinh dưỡng của chúng rất đa dạng. Vì vậy các nhà phân loại học đã tách vi khuẩn cổ thành một giới riêng là giới Sinh vật cổ (Archaea) trong hệ thống phân loại 3 lãnh giới (xem phần trên) và cho rằng Sinh vật nguyên thủy (Progenota) xuất hiện cách đây khoảng 3,5 tỷ năm đã phân hóa cho ra 3 nhánh; Vi khuẩn (Bacteria), Vi sinh vật cổ (Archaea) và Sinh vật nhân chuẩn (Eukarya), trong đó Vi sinh vật cổ gần với Sinh vật nhân chuẩn.

Nghiên cứu Vi khuẩn, đặc biệt là Vi sinh vật cổ có tầm đặc biệt quan trọng đối với thực tiễn sản xuất và đời sống, nhất là trong lĩnh vực Y học và Công nghệ sinh học.

Vi khuẩn lam

Vi khuẩn lam (*Cyanobacteria*) là nhóm vi sinh vật thuộc dạng tế bào nhân sơ, trước đây thường được gọi là tảo lam nhưng ngày nay được gọi là vi khuẩn lam (là sinh vật nhân sơ) để không nhầm với tảo (là sinh vật nhân chuẩn). Người ta cho rằng vi khuẩn lam là nhóm vi sinh vật xuất hiện sớm nhất trên Trái Đất (cách đây khoảng 3,2 tỷ năm), và vì chúng có khả năng quang hợp nên đã tạo nên oxy trong khí quyển ở đại Thái cổ khi chưa có thực vật.

Vi khuẩn lam vừa có dạng đơn bào, vừa có dạng đa bào gồm nhiều tế bào tạo thành sợi. Vi khuẩn lam có màu xanh lam và tạo nên màu xanh lam của các vực nước nơi chúng sinh sống. Tế bào vi khuẩn lam có sắc tố clorophin a chứa trong tilacoit (là cấu trúc được tạo nên do sự gấp nếp của màng sinh chất vào trong tế bào chất), do đó chúng có khả năng quang hợp tự dưỡng giống như tảo và thực vật.

Trong sợi vi khuẩn lam có phân hoá một loại tế bào có vách dày không màu có kích thước lớn hơn được gọi là dị bào nang. Dị bào nang có vai trò cố định nitơ không

khí. Ở Việt Nam có loài vi khuẩn lam thuộc chi *Anabaena* cộng sinh với bèo hoa dâu có khả năng cố định nitơ với năng suất 40-80kg nitơ trong một năm, do đó được sử dụng làm nguồn phân xanh cho lúa rất tốt.

Ngoài ra vi khuẩn lam còn được sử dụng làm thức ăn cho động vật thuỷ sinh, làm phân bón tăng chất mùn cho đất. Loài vi khuẩn lam thuộc chi *Spirulina* có chứa tới 55% - 65% protein, nhiều loại vitamin, enzim, sắc tố nên được sử dụng chế biến sinh khối làm thuốc, làm thực phẩm bổ sung cho người và vật nuôi.

III- TẾ BÀO NHÂN CHUẨN

3.1. So sánh tế bào nhân sơ với tế bào nhân chuẩn

Tế bào nhân chuẩn là dạng tế bào cấu tạo nên cơ thể động vật nguyên sinh, tảo, nấm, thực vật và động vật. Tế bào nhân chuẩn thường có kích thước lớn (trung bình từ 5 - 100µm), có cấu tạo phức tạp gồm ba thành phần: màng sinh chất (plasma membrane), tế bào chất (cytoplasma) và nhân (nucleus). Tế bào chất được phân vùng chứa nhiều loại bào quan phức tạp. Nhân có màng nhân tách biệt với tế bào chất và chứa nhiễm sắc thể có cấu tạo gồm ADN dạng thẳng liên kết với protein histon.

Để phân biệt tế bào nhân chuẩn với tế bào nhân sơ, có thể xem bảng tổng kết sau đây:

Bảng 2.1. So sánh đặc điểm của tế bào nhân sơ Procaryota với tế bào nhân chuẩn Eucaryota

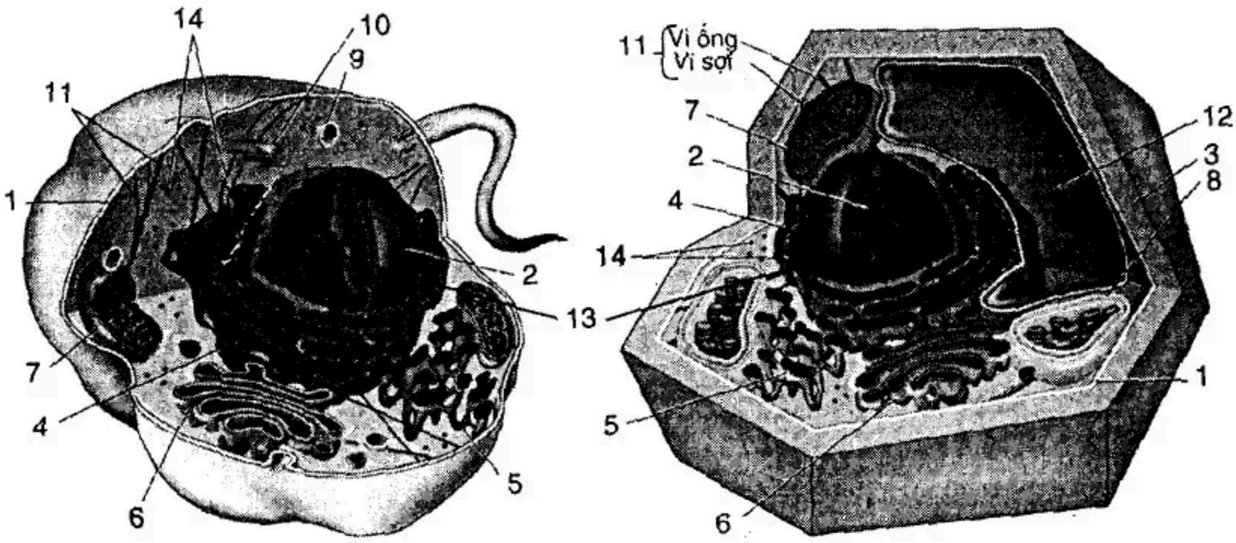
Tế bào Procaryota	Tế bào Eucaryota
- Vi khuẩn, Vi khuẩn lam.	- Nguyên sinh vật, nấm, thực vật, động vật.
- Kích thước bé (1 - 10µm).	- Kích thước lớn (10-100µm).
- Có cấu tạo đơn giản.	- Có cấu tạo phức tạp.
- Vật chất di truyền là phân tử ADN trần dạng vòng nằm phân tán trong tế bào chất.	- Vật chất di truyền là ADN + histon tạo nên nhiễm sắc thể dạng thẳng khu trú trong nhân.
- Chưa có nhân. Chỉ có thể nhân (nucleoid) là phần tế bào chất chứa ADN.	- Có nhân với màng nhân. Trong nhân chứa chất nhiễm sắc và hạch nhân.
- Tế bào chất chỉ chứa các bào quan đơn giản như riboxom, mezoxom.	- Tế bào chất được phân vùng và chứa các bào quan phức tạp như mạng lưới nội chất, riboxom, ty thể, lục lạp, thể Golgi, lizoxom, peroxixom, trung thể v. v...
- Phương thức phân bào đơn giản bằng cách phân đôi.	- Phương thức phân bào phức tạp (mitosis và meiosis) với bộ máy phân bào là thoi phân bào.
- Có lông, roi cấu tạo đơn giản từ protein flagelin.	- Có lông và roi có cấu tạo vi ống phức tạp theo kiểu 9+2.

Để nghiên cứu cấu trúc và chức năng của tế bào nhân chuẩn người ta thường sử dụng các tế bào thực vật và tế bào động vật.

3.2. Tế bào thực vật và tế bào động vật

Tế bào thực vật cũng như tế bào động vật đều thuộc dạng tế bào nhân chuẩn điển hình. Chúng có nhiều đặc điểm giống nhau và khác nhau phản ánh tính thống nhất và tính đa dạng trong cấu tạo và chức năng của chúng.

Hình 2.3. A, B nêu các đặc điểm giống nhau và khác nhau giữa tế bào động vật và tế bào thực vật.



A. Tế bào động vật B. Tế bào thực vật

Hình 2.3. *Cấu trúc của tế bào động vật (A) và tế bào thực vật (B)*

1. Màng sinh chất; 2. Nhân; 3. Thành xenlulozơ; 4. Mạng lưới nội chất hạt; 5. Mạng lưới nội chất trơn; 6. Bộ máy Golgi; 7. Ty thể; 8. Lục lạp; 9. Lizoxom; 10. Trung thể; 11. Vi sợi; 12. Không bào lớn; 13. Nhân con; 14. Riboxom.

Tế bào thực vật được phân biệt với tế bào động vật chủ yếu ở các đặc điểm sau (bảng 2.2).

Bảng 2.2. So sánh sai khác giữa tế bào thực vật và tế bào động vật

Tế bào thực vật	Tế bào động vật
- Có thành vỏ xenlulozơ bao ngoài màng sinh chất.	- Không có thành vỏ xenlulozơ.
- Có lục lạp, quang tự dưỡng.	- Không có lục lạp, hóa dị dưỡng.
- Chất dự trữ là tinh bột.	- Chất dự trữ là glicogen.
- Không có trung tử.	- Có trung tử.
- Phân bào không có sao và phân tế bào chất bằng vách ngang ở trung tâm.	- Phân bào có sao và phân tế bào chất bằng eo thắt ở trung tâm.
- Hệ không bào phát triển.	- Ít khi có không bào.

CÂU HỎI KIỂM TRA KIẾN THỨC (ĐÚNG, SAI)

(Chương II. Tế bào nhân sơ. Tế bào nhân chuẩn)

1. R. Hook - người phát kiến ra tế bào mô bần thực vật (1665).
2. Lewenhoek - người phát kiến ra tinh trùng động vật (1672).
3. Theo Engels 3 phát kiến vĩ đại của thế kỷ XIX là: học thuyết bảo tồn năng lượng, học thuyết tế bào và học thuyết tiến hoá của Darwin.
4. Virut có cấu tạo tế bào nên được xem là cơ thể sống.
5. Vi khuẩn thuộc tế bào Eucaryota.
6. Vi khuẩn lam thuộc tế bào Procaryota.
7. Amip là tế bào Procaryota và là cơ thể đa bào.
8. Paramecium thuộc tế bào Eucaryota và là cơ thể đơn bào.
9. Tế bào tảo lục thuộc tế bào Eucaryota có lục lạp.
10. Tế bào thực vật không có lục lạp và không có vách xenlulozơ.
11. Tế bào thực vật và tế bào động vật đều có ty thể.
12. Tế bào hồng cầu động vật có vú không có nhân và vách xenlulozơ.
13. Sợi cơ vân là hợp bào.
14. Bạch cầu là tế bào có nhiều nhân.
15. Nơron là tế bào hình cầu và luôn luôn phân bào.

16. Procaryota và Eucaryota đều chứa ADN và riboxom.
17. Procaryota chứa ADN trần dạng vòng.
18. Eucaryota chứa ADN + histon tạo thành nhiễm sắc thể.
19. Nucleus là nhân của *E.coli*, còn nucleoid là nhân của tế bào rễ hành.
20. Eucaryota có tế bào chất chứa nhiều bào quan phức tạp.
21. Hồng cầu gà và ếch đều có nhân và màng nhân.
22. Với mắt thường ta có thể nhìn thấy hồng cầu, còn tế bào trứng ếch thì qua kính hiển vi.
23. Tế bào thực vật có chứa glicogen còn tế bào động vật có tích luỹ tinh bột.
24. Glicogen và tinh bột đều là chất lipit phức tạp.
25. Axit nucleic và protein đều thuộc đại phân tử sinh học.

Chương III

CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA MÀNG SINH CHẤT

I- KHÁI NIỆM VỀ MÀNG SINH CHẤT

1.1. Màng sinh học chung (Biological membrane - unit membrane)

Màng sinh học là siêu cấu trúc có cấu tạo màng lipoprotein - là cấu tạo tiền thân của tất cả hệ thống màng của tế bào. Người ta giả thiết rằng trong quá trình hình thành và tiến hoá của tế bào thì giai đoạn xuất hiện lớp màng lipoprotein để khu trú, cô lập các đại phân tử axit nucleic và protein với môi trường thành hệ thống riêng biệt là giai đoạn khởi đầu bắt buộc nhưng vẫn giữ sự trao đổi chất, năng lượng và thông tin với môi trường (hệ thống mở).

1.2. Màng sinh chất và màng nội bào

Màng sinh học xuất hiện đầu tiên là màng sinh chất (plasma membrane) bao quanh khối tế bào chất có chứa các phân tử hữu cơ (axit nucleic, protein...) (tế bào Procaryota).

Trong quá trình tiến hoá, màng sinh chất phân hoá vào khối tế bào chất tạo nên hệ thống màng nội bào, phân chia tế bào chất thành nhiều ô buồng tạo nên hệ bào quan phức tạp (mạng lưới nội chất, phức hệ golgi, lizoxom, peroxixom, màng nhân v.v...) (tế bào Eucaryota). Hệ bào quan phức tạp ở Eucaryota bảo đảm thực hiện các chức năng sống một cách có trật tự và hiệu quả cao theo không gian và thời gian.

Hệ thống màng sinh học (màng sinh chất và màng nội bào) đều có diện cấu tạo chung:

– Màng lipoprotein có độ dày từ 7 - 10nm, có thành phần hoá học gồm lipit (25 - 75%) và protein (25 - 75%). Ngoài ra còn có cacbohydrat (5 - 10%).

– Lipit chủ yếu là photpholipit tạo thành lớp kép xếp theo kiểu đầu ưa nước quay ra ngoài và vào trong, còn đầu kỵ nước quay lại với nhau. Protein phân bố rất đa dạng và linh hoạt trong lớp lipit kép. Các cacbohydrat thường liên kết với lipit hoặc protein ở mặt ngoài màng. Hàm lượng lipit, protein và cacbohydrat cũng như cách sắp xếp của chúng trong màng tuỳ thuộc vào chức năng của màng, chúng ta sẽ xem xét ở các phần sau.

Màng sinh chất của tế bào nhân chuẩn cũng có cấu tạo chung như màng sinh chất của tế bào nhân sơ nhưng được phân hoá phức tạp hơn.

II- MÔ HÌNH PHÂN TỬ CỦA MÀNG SINH CHẤT

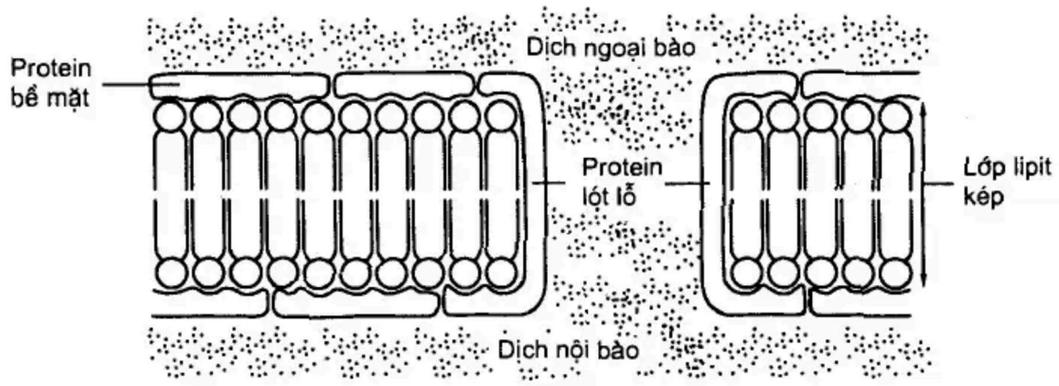
2.1. Thành phần hóa học của màng

Màng sinh chất cũng như các màng nội bào khác (màng mạng lưới nội chất, màng bộ máy golgi, màng ty thể, màng lục lạp, màng lizoxom, màng không bào, màng nhân...) đều có cấu tạo gồm lipit, protein và cacbohydrat, trong đó lipit và protein là chủ yếu (chiếm trên 90% khối lượng khô của màng) nên được gọi là màng lipoprotein.

Lipit có trong màng chủ yếu là photpholipit, ngoài ra còn có colesterol. Protein có trong màng gồm nhiều loại có chức năng rất khác nhau.

2.2. Mô hình phân tử của màng

Màng sinh chất là màng rất mỏng, có độ dày khoảng 7, 5 - 10nm, bao quanh tế bào chất như hàng rào ổn định. Vấn đề đặt ra là các phân tử lipit, protein, cacbohydrat được sắp xếp như thế nào ở trong màng để tạo nên đặc tính chức năng của màng là vừa có tính ổn định, vừa có tính mềm dẻo đáp ứng được chức năng đa dạng của màng trong đời sống của tế bào và của cơ thể. Từ những năm 40 của thế kỷ XIX, hai ông H. Davson và J. Danielli đã đề xuất mô hình phân tử của màng sinh chất, trong đó các phân tử photpholipit sắp xếp thành một lớp kép theo kiểu đầu ưa nước quay ra ngoài và vào trong, còn đuôi kỵ nước thì quay lại với nhau, tạo nên cái khung liên tục bao quanh tế bào. Các phân tử protein sắp xếp thành hai lớp trong và ngoài kẹp lấy khung lipit (được gọi là mô hình bánh kẹp thịt - sandwich) (hình 3.1).



Hình 3.1. *Mô hình "bánh kẹp thịt" của màng theo Davson - Danielli*

Mô hình "bánh kẹp thịt"giải thích được tính ổn định của màng nhưng không giải thích được đặc tính mềm dẻo của màng khi thực hiện các chức năng rất đa dạng của màng, do đó không được công nhận.

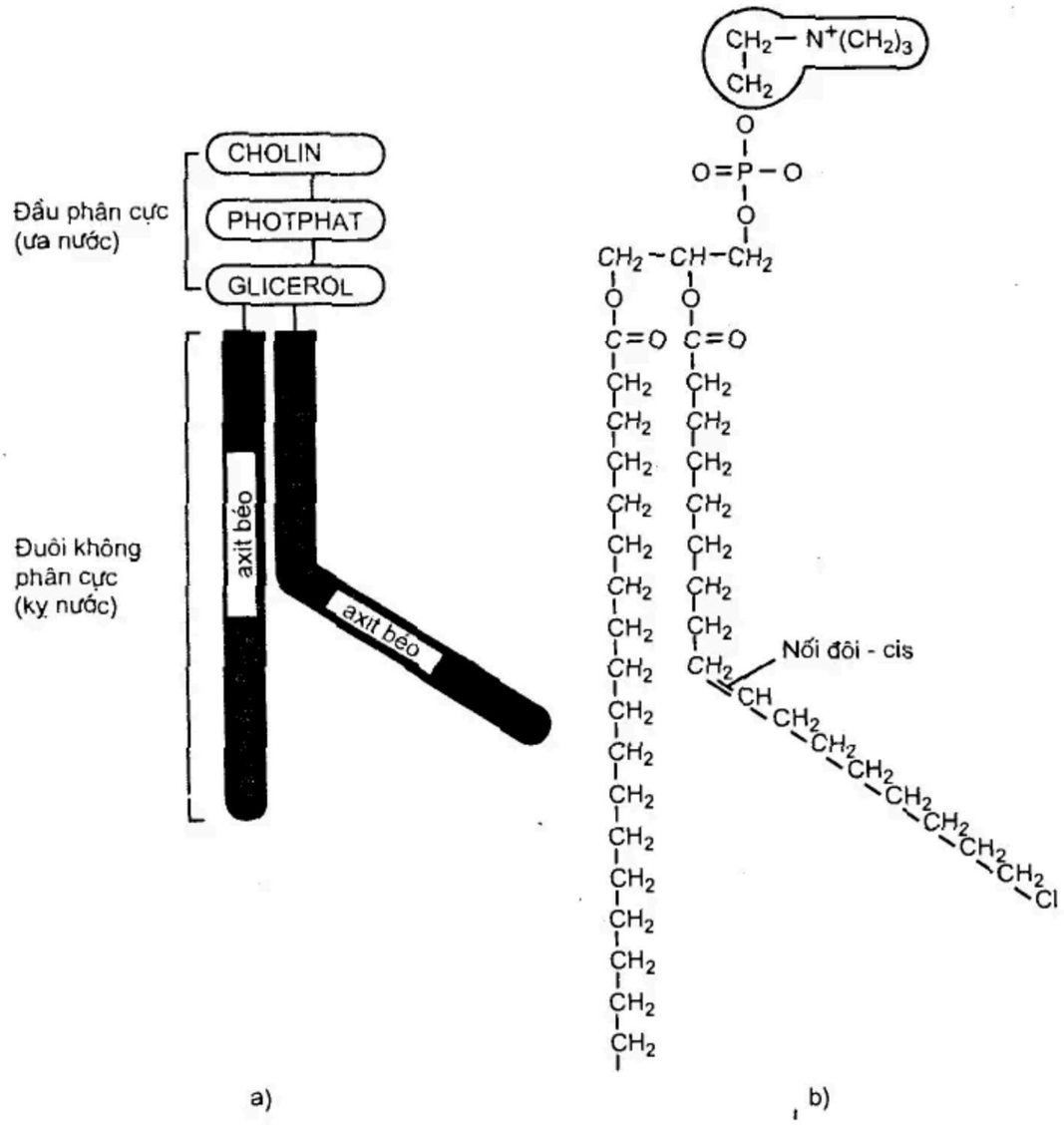
Từ năm 1972, hai ông J. Singer và G. Nicolson đã đề xuất mô hình "khảm động" của màng và được công nhận là phù hợp với thực tế cấu tạo của màng đối với các dạng tế bào, và giải thích được tính vừa ổn định cao, đồng thời có tính linh hoạt cao để đáp ứng được chức năng đa dạng của màng (hình 3.3), trong đó lớp photpholipit kép tạo nên cái khung liên tục của màng, còn các phân tử protein phân bố rải rác (khảm) trong khung, xuyên qua khung hoặc bám ở rìa trong và rìa ngoài của màng. Tính chất "động" của màng, tức là màng không chỉ có tính ổn định mà còn có tính mềm dẻo linh hoạt là do tính chất "động" của các phân tử lipit và protein có trong màng.

a) Lipit của màng (hình 3.3)

Lipit có trong màng chủ yếu là photpholipit và colesterol. Chúng tạo nên cái khung ổn định của màng, đồng thời chúng tham gia tạo nên tính mềm dẻo của màng.

– Các phân tử photpholipit có thể tự quay, dịch chuyển ngang, dịch chuyển trên dưới (dịch chuyển flip - flop).

– Khi các phân tử photpholipit có đuôi hydrocacbon (kỵ nước) ở trạng thái no (có nối đơn trong đuôi hydrocacbon – CH_2 – CH_2 – CH_2 – CH_2 – CH_2–...) màng có tính bền vững, còn khi đuôi hydrocacbon có nối đôi – CH_2 – CH= CH – CH_2 – màng sẽ có tính lỏng lẻo (hình 3.2).



Hình 3.2. *Phân tử photpholipit có đuôi kỵ nước chưa no*
a) Các cấu thành của photpholipit. b) Công thức thấy rõ nối đôi chưa no

– Trong khung lipit, các phân tử colesterol sắp xếp xen kẽ vào giữa các phân tử photpholipit tạo thêm tính ổn định của khung. Khi tỷ lệ photpholipit/colesterol cao, màng mềm dẻo, còn khi tỷ lệ này nhỏ (nếu nhiều colesterol) màng sẽ bền chắc. Vì vậy khi thành mạch máu tích chứa nhiều colesterol sẽ cứng chắc, gây nên xơ vữa mạch.

Nhờ tính chất linh hoạt của khung lipit cho nên màng có thể thay đổi tính thấm khi nhiệt độ môi trường thay đổi để đáp ứng với các hoạt động thích nghi của tế bào (chịu đựng nhiệt độ lạnh của mùa đông - màng trở nên đặc, cứng chắc hơn, nhiệt độ nóng của mùa hè - màng trở nên lỏng và mềm dẻo hơn...).

b) Protein của màng (hình 3.3)

– Protein có trong màng rất đa dạng, chúng phân bố "khảm" vào

khung lipit. Ví dụ, người ta đã phát hiện trong màng sinh chất của hồng cầu có đến 50 loại protein khác nhau. Màng sinh chất của các loại tế bào khác nhau chứa các loại protein khác nhau thực hiện nhiều chức năng đa dạng. Người ta phân biệt loại protein xuyên màng và loại protein rìa màng.

+ *Protein xuyên màng* là những protein nằm xuyên qua khung lipit (một lần hoặc nhiều lần). Phần kỵ nước của protein (gồm các axit amin kỵ nước tạo nên xoắn α) nằm trong khung lipit, còn đầu ưa nước thì thò ra phía ngoài khung (phía môi trường hoặc phía tế bào chất).

+ *Protein rìa màng* là những protein bám vào mặt ngoài hoặc mặt trong của màng.

Các phân tử protein màng tham gia tạo nên tính chất "động" của màng.

– Các phân tử protein cũng có thể thay đổi vị trí và hình thù không gian làm cho màng có tính linh hoạt và mềm dẻo cao (động).

– Protein trong màng có nhiều chức năng:

+ Chức năng vận chuyển chất qua màng: Protein tạo nên kênh vận chuyển (channel protein). Protein đóng vai trò chất mang (transporter). Protein tạo nên các bơm ion có vai trò vận chuyển chủ động các ion qua màng.

+ Chức năng enzim: Nhiều protein màng có hoạt tính enzim, chúng xúc tác các phản ứng xảy ra trong màng hoặc trong tế bào chất.

+ Chức năng thu nhận và truyền đạt thông tin: Các protein thụ quan (receptor) có trong màng có thù hình đặc trưng, có khả năng liên kết với các chất thông tin hóa học (ví dụ hoocmon) để kích thích, hoặc ức chế các quá trình trong tế bào, đáp ứng được thay đổi của môi trường.

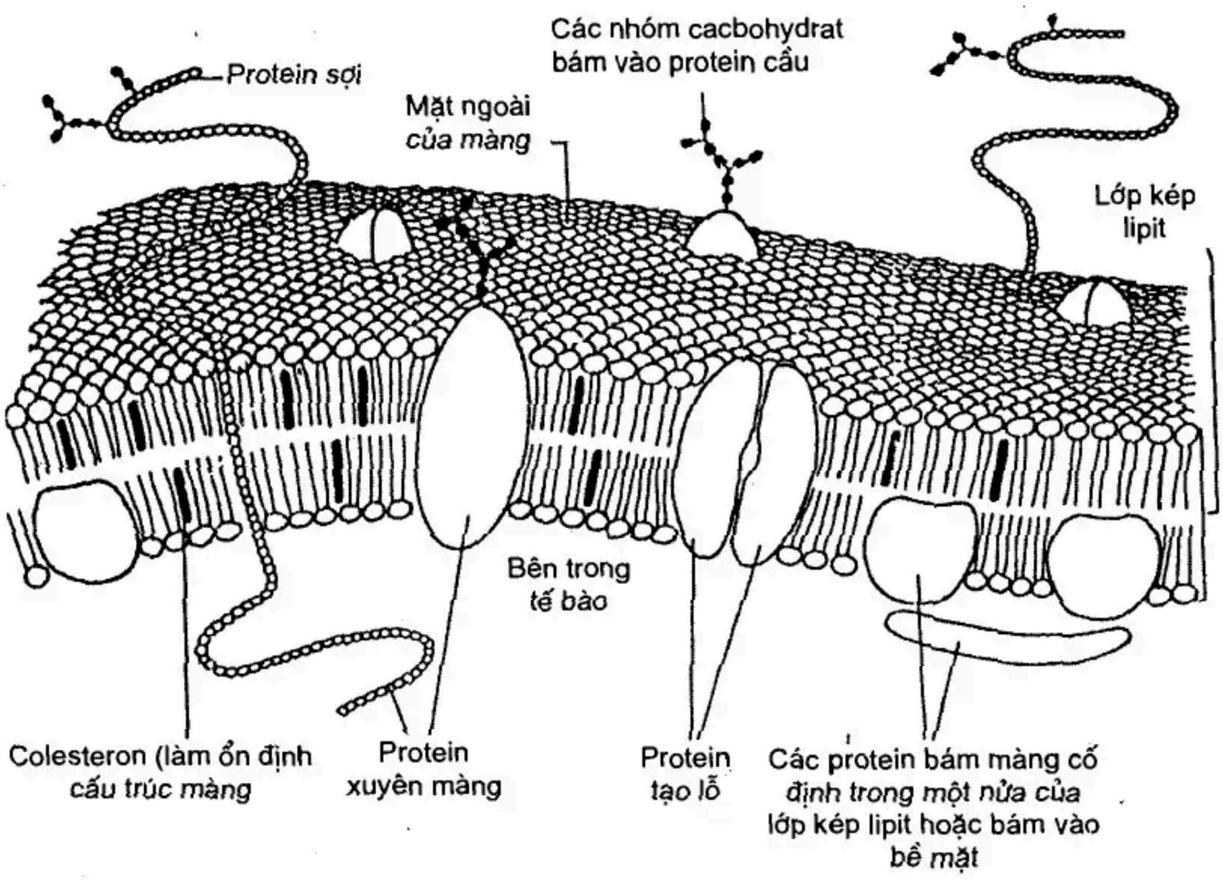
+ Chức năng nhận biết tế bào: Nhiều protein màng (thường là glicoprotein) đóng vai trò "chất đánh dấu" (maker) để các tế bào cùng loại hoặc khác loại nhận biết nhau.

+ Chức năng nối kết: Nhiều protein màng đóng vai trò nối kết các tế bào trong mô thành một khối ổn định.

+ Chức năng neo màng: Nhiều protein liên kết với các protein sợi hoặc các vi sợi trong tế bào chất, do đó tạo nên sự ổn định và bền chắc của màng.

c) Cacbohydrat của màng (hình 3.3)

– Các phân tử cacbohydrat thường liên kết với photpholipit (glicolipit) hoặc protein (glicoprotein) phân bố ở mặt ngoài màng tạo nên tính bất đối xứng của màng, tham gia tạo nên khối chất nền ngoại bào (extracellular matrix) giữa các tế bào trong mô của cơ thể đa bào. Chất nền ngoại bào không chỉ có chức năng dính kết các tế bào trong mô mà còn có chức năng truyền đạt thông tin giữa các tế bào.



***Hình 3.3.** Mô hình khảm động của màng sinh chất*

2.3. Cấu trúc và vai trò của thành tế bào

Đối với đa số tế bào, bao ngoài màng sinh chất còn có lớp thành tế bào (glicocalix) không chỉ có vai trò bảo vệ, nâng đỡ mà còn có nhiều vai trò khác nhau như miễn dịch, liên kết các tế bào cạnh nhau...

Tế bào thực vật khác với tế bào động vật ở chỗ chúng có thành tế bào bao phía ngoài màng sinh chất. Thành của tế bào thực vật được cấu tạo từ chất xenlulozơ là chất đa phân gồm rất nhiều phân tử

glucozơ liên kết với nhau tạo thành sợi và tấm rất vững chắc. Nhờ có thành xenlulozơ mà thực vật có thân cành cứng chắc mọc cao, toả rộng tán lá để thu nhận được nhiều ánh sáng cần cho quang hợp. Thành xenlulozơ có vai trò tạo sức trương cho tế bào thực vật thực hiện nhiều chức năng sinh lý khác nhau. Các tế bào thực vật còn non thường tiết ra lớp thành xenlulozơ sơ cấp mỏng và mềm tạo điều kiện cho tế bào sinh trưởng dễ dàng, nhưng khi tế bào đã già và ngừng sinh trưởng, tế bào tạo thêm thành thứ cấp dày hơn, cứng chắc hơn, có vai trò nâng đỡ và bảo vệ. Ví dụ, gỗ có thành thứ cấp thấm thêm chất lignin, bần có thành thứ cấp thấm thêm chất xubêrin.

Tế bào thực vật có thành xenlulozơ tạo cho cây cứng chắc. Cây tre, cây cau... thân cao, mảnh khảnh nhưng chịu được gió bão. Cây thông đỏ khổng lồ cao 100m. Các tế bào thực vật thông thương với nhau qua cầu nối tế bào chất (plasmoodesma) là những kênh xuyên qua thành xenlulozơ, vì vậy các tế bào ở cạnh nhau có thể trao đổi chất cho nhau.

Trong kỹ thuật nuôi cấy tế bào thực vật *invitro*, người ta tạo các tế bào trần bằng cách tách bỏ thành xenlulozơ, như vậy tế bào chỉ còn được bao bởi màng sinh chất nhưng chúng vẫn sống và sinh sản cho ra khối tế bào được gọi là mô sẹo. Từ mô sẹo sẽ phát triển cho ra các phôi mầm và cây toàn diện. Trong công nghệ sinh học, bằng phương pháp nuôi cấy tế bào trần, người ta có thể nuôi cấy tế bào lá, thân, rễ của cây để nhân giống vô tính nhanh chóng cây giống, hoặc lai tế bào trần để tạo giống cây mới (cây lương thực, cây thực phẩm, cây thuốc, cây cảnh, cây gỗ...) mang nhiều đặc điểm có lợi như năng suất cao, chống chịu sâu bệnh, thích nghi với điều kiện khó khăn của môi trường.

Đối với đa số nấm, tế bào có thành bằng chất kitin giống chất kitin của động vật chân khớp. Kitin là chất polisaccarit có thấm thêm nitơ.

Đối với tế bào động vật, tuy không có thành tế bào có cấu trúc rõ rệt như tế bào thực vật nhưng có lớp áo (cell coat), được gọi là *chất nền ngoại bào* (extracellular matrix) được cấu tạo gồm proteoglican do tế bào chế tiết. Proteoglican được cấu tạo từ lõi protein liên kết với cacbohydrat tạo nên các nhánh bên. Proteoglican của chất nền ngoại bào liên kết chặt chẽ với các protein và glicoprotein của màng sinh chất. Chất nền ngoại bào có vai trò quan trọng trong việc liên kết các tế bào ở cạnh nhau tạo nên mô, trao đổi chất và truyền đạt thông tin giữa các tế bào với nhau.

III- CHỨC NĂNG CỦA MÀNG SINH CHẤT

Màng sinh chất có chức năng định khu tế bào thành hệ thống cách ly với môi trường, nhưng là hệ thống mở nghĩa là luôn trao đổi vật chất năng lượng và thông tin với môi trường. Đó cũng là lý do tồn tại và phát triển của hệ thống sống. Màng sinh chất kiểm soát sự vận chuyển chất và trao đổi thông tin giữa tế bào và môi trường.

3.1. Sự vận chuyển vật chất qua màng

Màng sinh chất là màng có tính thấm chọn lọc, nghĩa là màng có khả năng điều chỉnh sự vận chuyển các chất đi vào và đi ra tế bào tùy theo nhu cầu sống của tế bào. Các chất cũng như các phần tử được vận chuyển qua màng vào trong tế bào cũng như ra ngoài tế bào theo 3 phương thức: thụ động, chủ động và nhập bào - xuất bào.

a) Vận chuyển thụ động

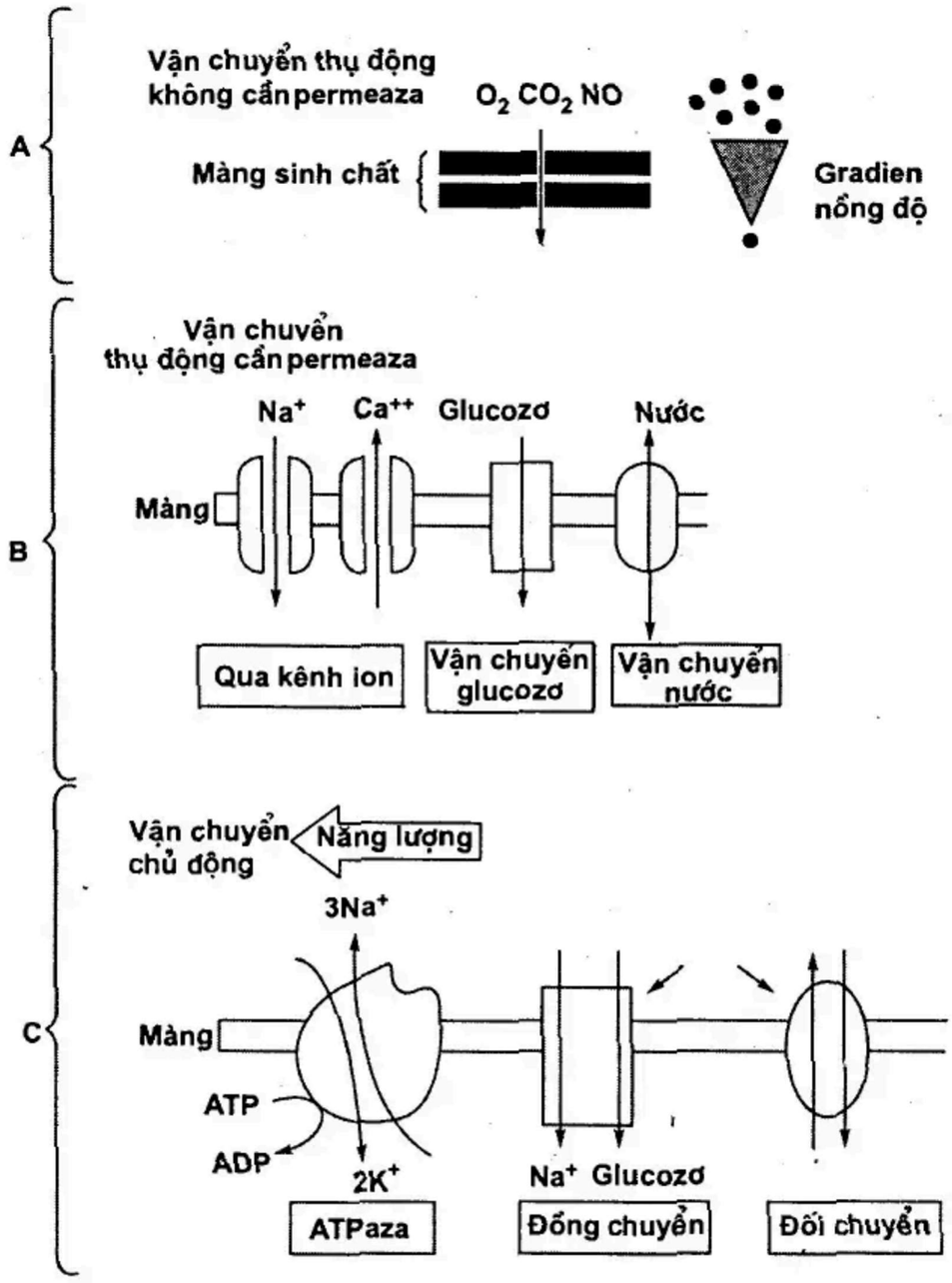
– Sự vận chuyển thụ động các chất qua màng là sự vận chuyển không tiêu phí năng lượng ATP và theo gradien nồng độ.

– Các chất được vận chuyển thụ động qua màng là tùy thuộc vào bản chất lý hóa của bản thân các chất đó và còn tùy thuộc vào cấu trúc của màng. Người ta phân biệt 2 dạng vận chuyển thụ động:

+ Các chất được vận chuyển trực tiếp qua màng không cần sự giúp đỡ của các protein màng (thường được gọi là permeaza). Các chất càng bé càng dễ dàng vận chuyển qua màng. Các chất phân cực và chất tích điện khó đi qua màng. Các chất hòa tan trong lipit dễ dàng vận chuyển qua màng.

Ví dụ, các chất bé không phân cực như O_2, CO_2, NO, ... được vận chuyển trực tiếp qua màng (hình 3.4.A), còn các chất bé như các ion có mang điện tích khó qua màng, hoặc các chất phân cực như H_2O, glucozơ, axit amin... khó đi qua màng.

+ Các chất tích điện (các ion), các phân tử phân cực được vận chuyển qua màng nhờ sự giúp đỡ của các protein màng. Sự vận chuyển kiểu này được gọi là *sự vận chuyển dễ dàng*. Ví dụ, các ion được vận chuyển qua các kênh ion (ion channel) do protein tạo nên được gọi là protein tạo kênh (ví dụ kênh vận chuyển Na^+, kênh vận chuyển Ca^{2+}...). Các phân tử nước, glucozơ, axit amin... là các chất phân cực được vận chuyển qua màng nhờ các protein mang (transporter) (ví dụ, glucozơ được vận chuyển nhờ protein *GLUT*, nước được vận chuyển nhờ protein *aquaporin*) (hình 3.4.B)

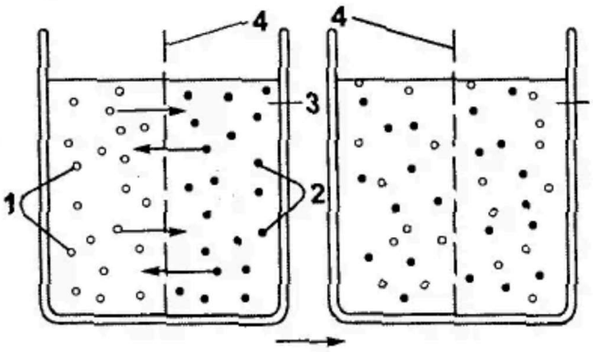


Hình 3.4. *Sự vận chuyển thụ động (A và B), và sự vận chuyển chủ động (C) qua màng sinh chất*

A. Các phân tử bé như O_2, CO_2, NO... được vận chuyển trực tiếp qua màng theo gradien nồng độ không cần tiêu thụ năng lượng; B. Các ion như Na^+, Ca^{2+}... được vận chuyển qua màng thông qua các kênh ion; các phân tử như glucozơ, nước... được vận chuyển qua màng nhờ các protein mang (permeaza) không cần tiêu thụ năng lượng; C. Vận chuyển chủ động các ion (Na^+, K^+) các phân tử (glucozơ) ngược với gradien nồng độ cần phải tiêu thụ năng lượng ATP.

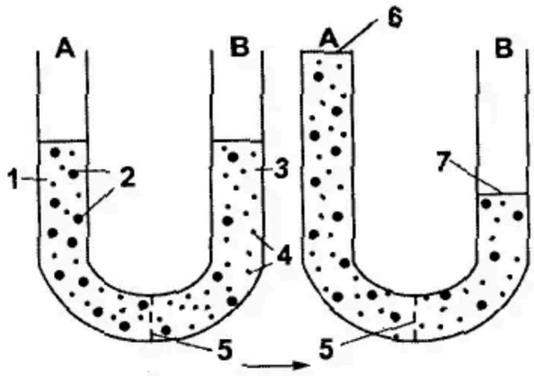
Các chất hoà tan, nước được vận chuyển qua màng nhờ hiện tượng khuếch tán và thẩm thấu.

Các chất hoà tan trong nước sẽ được vận chuyển qua màng theo gradien nồng độ (từ nơi nồng độ cao đến nơi nồng độ thấp) được gọi là sự khuếch tán (diffusion) (hình 3.5A). Nước thấm qua màng theo gradien áp suất thẩm thấu (từ nơi có thế nước cao đến nơi có thế nước thấp) được gọi là sự thẩm thấu (osmosis) (hình 3.5B).



Hình 3.5.A. *Hiện tượng khuếch tán*

1. *Sunphat đồng (các hạt trắng)*; 2. Iodua kali (các hạt đen); 3. Nước; 4. Màng thấm.



Hình 3.5.B*. Hiện tượng thẩm thấu*

1. Dung dịch đường 11%; 2. Phân tử đường; 3. Dung dịch đường 5%; 4. Phân tử nước; 5. Màng thấm chọn lọc; 6, 7. Mực nước giữa ống A và B.

Tuỳ theo áp suất thẩm thấu của dung dịch trong đó tế bào sống, người ta chia dung dịch thành 3 loại khác nhau: dung dịch đẳng trương, ưu trương và nhược trương.

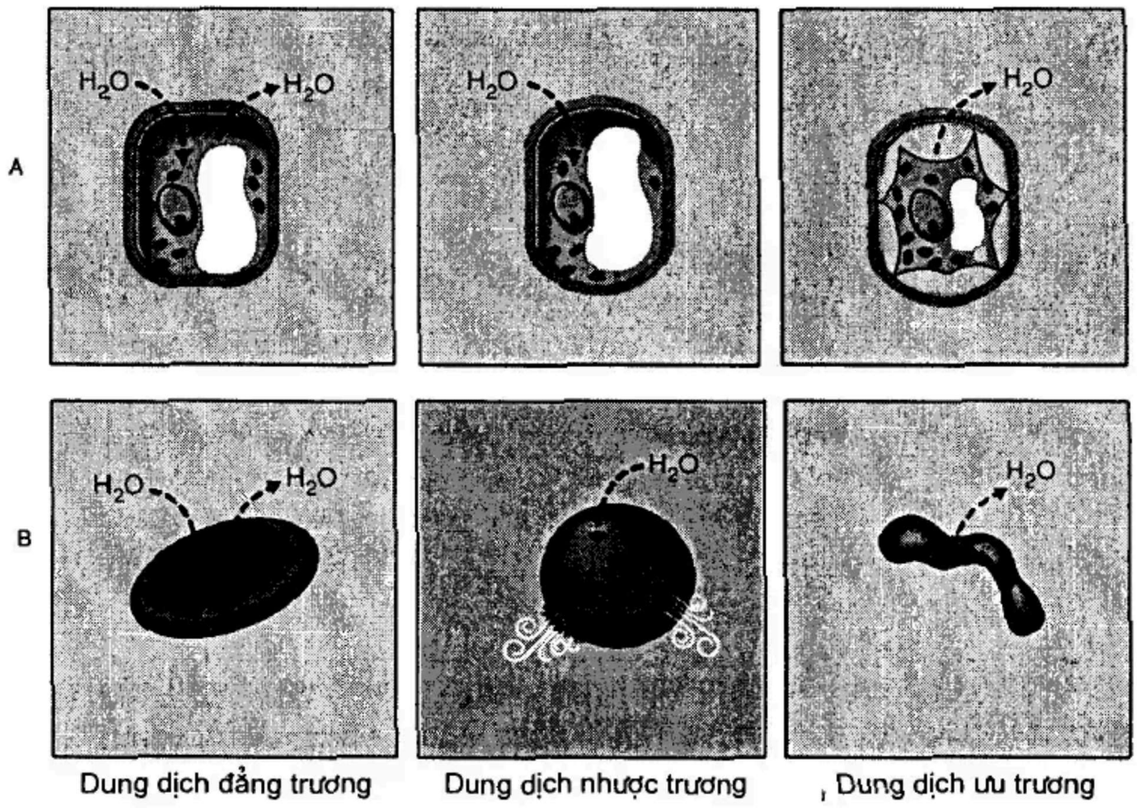
– Dung dịch đẳng trương là dung dịch có áp suất thẩm thấu bằng áp suất thẩm thấu của tế bào sống trong đó.

– Dung dịch ưu trương là dung dịch có áp suất thẩm thấu lớn hơn áp suất thẩm thấu của tế bào sống trong đó.

– Dung dịch nhược trương là dung dịch có áp suất thẩm thấu bé hơn áp suất thẩm thấu của tế bào sống trong đó.

Trong dung dịch đẳng trương, lượng nước đi ra và vào tế bào như nhau nên tế bào không thay đổi. Trong dung dịch nhược trương nước sẽ đi vào tế bào làm thể tích tế bào tăng cao, trương phồng lên; đối với tế bào động vật vì không có thành xenlulozơ cứng nên chúng có thể bị vỡ tan ra (ví dụ khi để hồng cầu trong dung dịch nhược trương chúng sẽ bị vỡ ra được gọi là hiện tượng tiêu huyết), còn đối với tế bào thực vật có thành cứng xenlulozơ nên nước vào trong tế bào chúng không

bị vỡ tan, mà tế bào chất và không bào tăng thể tích tạo nên sức trương. Sức trương có vai trò quan trọng đối với nhiều hoạt động sinh lý của cơ thể thực vật. Trong dung dịch ưu trương, nước sẽ đi ra khỏi tế bào làm cho thể tích của tế bào giảm, tế bào co lại, thường được gọi là hiện tượng co nguyên sinh (hình 3.6).



Hình 3.6. *Hiện tượng co nguyên sinh ở tế bào thực vật (A) và hiện tượng tiêu huyết ở tế bào động vật - hồng cầu người (B)*

b) Vận chuyển chủ động

Sự vận chuyển chủ động là sự vận chuyển các chất qua màng thông qua các permeaza (kênh hoặc chất mang) của màng ngược với gradien nồng độ và có tiêu thụ năng lượng ATP (hình 3.4C). Tế bào thường sống trong các môi trường có nồng độ chất hoà tan rất khác nhau nên phương thức vận chuyển chủ động là phương thức chủ yếu để tế bào có thể duy trì được cân bằng nội môi, cân bằng nội môi với môi trường ngoài cũng như hấp thụ được các chất cần thiết và thải bỏ các chất thừa hoặc độc hại. Bình thường tế bào phải chi phí khoảng 10 - 20% số năng lượng ATP cho sự vận chuyển chủ động qua màng.

Nếu sự trao đổi chất và trao đổi năng lượng ngừng trệ thì sự vận chuyển chủ động bị đình chỉ và các chất vào, ra tế bào thụ động theo gradien nồng độ. Cũng vì vậy mà cá, ếch nhái sống trong nước ao, hồ, sông không bị trương phồng, nhưng khi chúng chết, tế bào cơ thể tích đầy nước và trương phồng lên vì cơ thể của chúng không còn sản sinh năng lượng để chống lại thế nước.

Sự vận chuyển chủ động các ion được thực hiện nhờ permeaza có hoạt tính ATPaza (có khả năng phân giải ATP để sử dụng năng lượng cho vận chuyển) được gọi là *bơm ion* có vai trò vận chuyển các ion qua màng ngược với gradien nồng độ ion. Trong màng có các bơm ion Na^+, bơm K^+, bơm Cl^-, bơm H^+, bơm Ca^{++} ...

Sự vận chuyển nhờ kênh hoặc nhờ protein mang có thể là thụ động hoặc chủ động và có thể xảy ra theo kiểu đơn chuyển (uniport), đồng chuyển (symport) hoặc đối chuyển (antiport). Đơn chuyển là vận chuyển chất nào đấy theo chỉ một hướng vào hoặc ra. Đồng chuyển là vận chuyển hai chất đồng thời theo một hướng (ví dụ vận chuyển chủ động glucozơ kèm theo vận chuyển thụ động ion Na^+), còn đối chuyển là vận chuyển một chất vào, một chất ra theo hướng ngược nhau (ví dụ vận chuyển thụ động Na^+ vào trong tế bào đồng thời bơm ion H^+ ra khỏi tế bào) (xem hình 3.4.C).

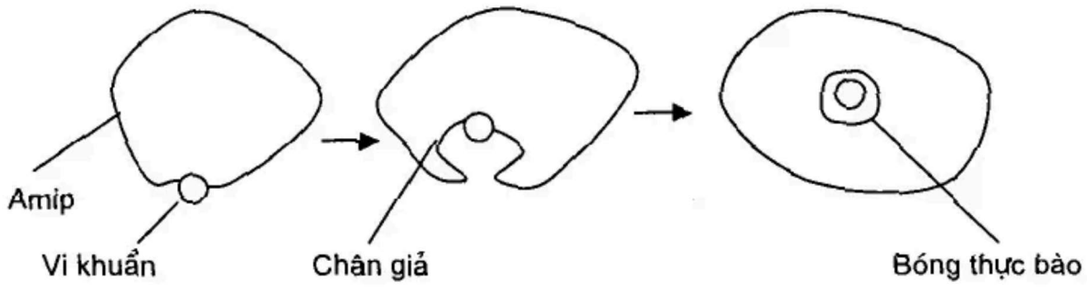
c) Sự nhập - xuất bào

Đối với các phân tử lớn, hoặc các thể rắn, hoặc lỏng thì tế bào sử dụng hình thức nhập bào để chuyển tải chúng vào trong tế bào, và hình thức xuất bào để chuyển tải chúng ra khỏi tế bào (hình 3.8).

– Sự nhập bào:

Tùy thuộc vào bản chất của phần tử được vận chuyển và trạng thái biến đổi của màng người ta phân biệt 3 dạng nhập bào sau đây:

+ Sự thực bào (phagocytosis - từ tiếng Hy Lạp *phagein* là ăn, *cytos* là tế bào) là trường hợp phần tử được vận chuyển vào tế bào ở dạng các phần tử rắn (ví dụ mẩu thức ăn, con vi khuẩn...), và màng sinh chất biến đổi hình thành chân giả bao lấy phần tử chất rắn tạo thành bóng nhập bào (hay bóng thực bào) (hình 3.7 và hình 3.8A). Các tế bào amip, các đại thực bào, các bạch cầu đơn nhân, các bạch cầu đa nhân... đều là những tế bào có khả năng tích cực thực bào các vi khuẩn để tiêu diệt chúng.

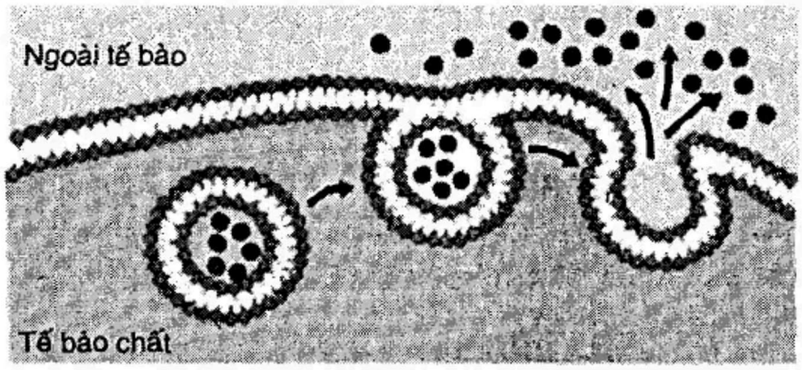


Hình 3.7. *Sự thực bào ở amip*

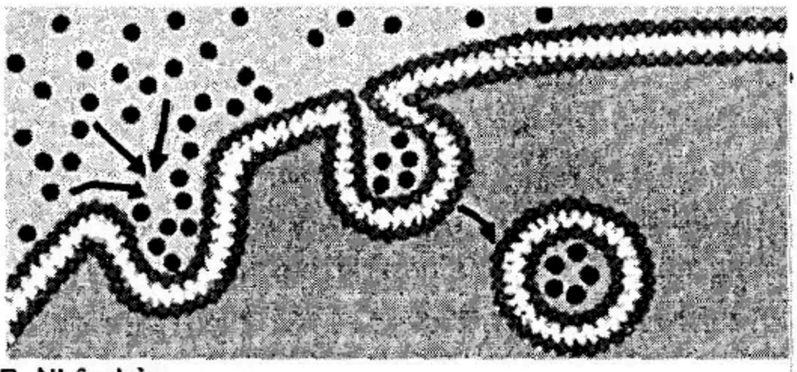
+ Sự ẩm bào (pinocytosis - từ tiếng Hy Lạp pinein là uống, cytos là tế bào) là trường hợp phần tử được nhập vào tế bào là giọt lỏng. Màng tế bào biến đổi bao lấy giọt lỏng và tạo thành bóng ẩm bào.

Các bóng thực bào và bóng ẩm bào được chuyên chở đến các lizoxom và được tiêu hóa bởi các enzim của lizoxom.

+ Sự nhập bào thông qua thụ quan: Trong trường hợp này chất vận chuyển được gọi là chất gắn (ligand) vì nó phải gắn với thụ quan màng (receptor) là proglicoprotein đặc trưng có trong màng. Chất vận chuyển gắn với thụ quan thành phức hợp, màng biến đổi lõm vào và bao lấy phức hợp tạo thành bóng nhập bào. Bóng nhập bào được bao thêm lớp áo bằng protein sợi. Chất được vận chuyển sẽ được giải phóng ra tế bào chất, còn bóng cùng thụ quan sẽ được màng tái sử dụng.



A. Xuất bào



B. Nhập bào

Hình 3.8. *Hiện tượng xuất bào và nhập bào*

– Sự xuất bào:

Hiện tượng xuất bào là hiện tượng tế bào bài xuất, chế tiết ra ngoài các chất hoặc phần tử bằng cách hình thành các bóng xuất bào (chứa các chất hoặc phần tử đó), các bóng này liên kết với màng, màng sẽ thay đổi và bài xuất các chất hoặc phần tử ra ngoài (hình 3.8A).

Như vậy trong hiện tượng nhập bào và xuất bào đòi hỏi phải có sự biến đổi, tái tạo lại màng và tiêu thụ năng lượng.

3.2. Sự trao đổi thông tin qua màng

Màng sinh chất thu nhận các tín hiệu khác nhau (ví dụ các hoocmon đặc thù) nhờ các protein đặc trưng khu trú trong màng đóng vai trò là các *thụ quan màng* (membrane receptor), vì vậy tế bào có khả năng đáp ứng kịp thời đối với tác động của các nhân tố môi trường. Sự truyền tín hiệu qua màng có vai trò đặc biệt quan trọng đối với hoạt động cơ và thần kinh của động vật.

a) Các thông tin

Các thông tin đến từ môi trường hoặc đến từ các tế bào khác thường ở dạng các tín hiệu hóa học. Đó có thể là chất hòa tan trong nước như các chất vô cơ (ion Ca^{2+}...), các chất hữu cơ (axit amin, peptit...), các kháng nguyên, các hoocmon, các nhân tố sinh trưởng, các chất trung gian thần kinh. Đó có thể là các chất hòa tan trong lipit như các hoocmon steroit (cortisol, estrogen, testosteron, progresteron...). Đó có thể là các gốc tự do ở dạng khí, ví dụ: oxit nitơ (NO).

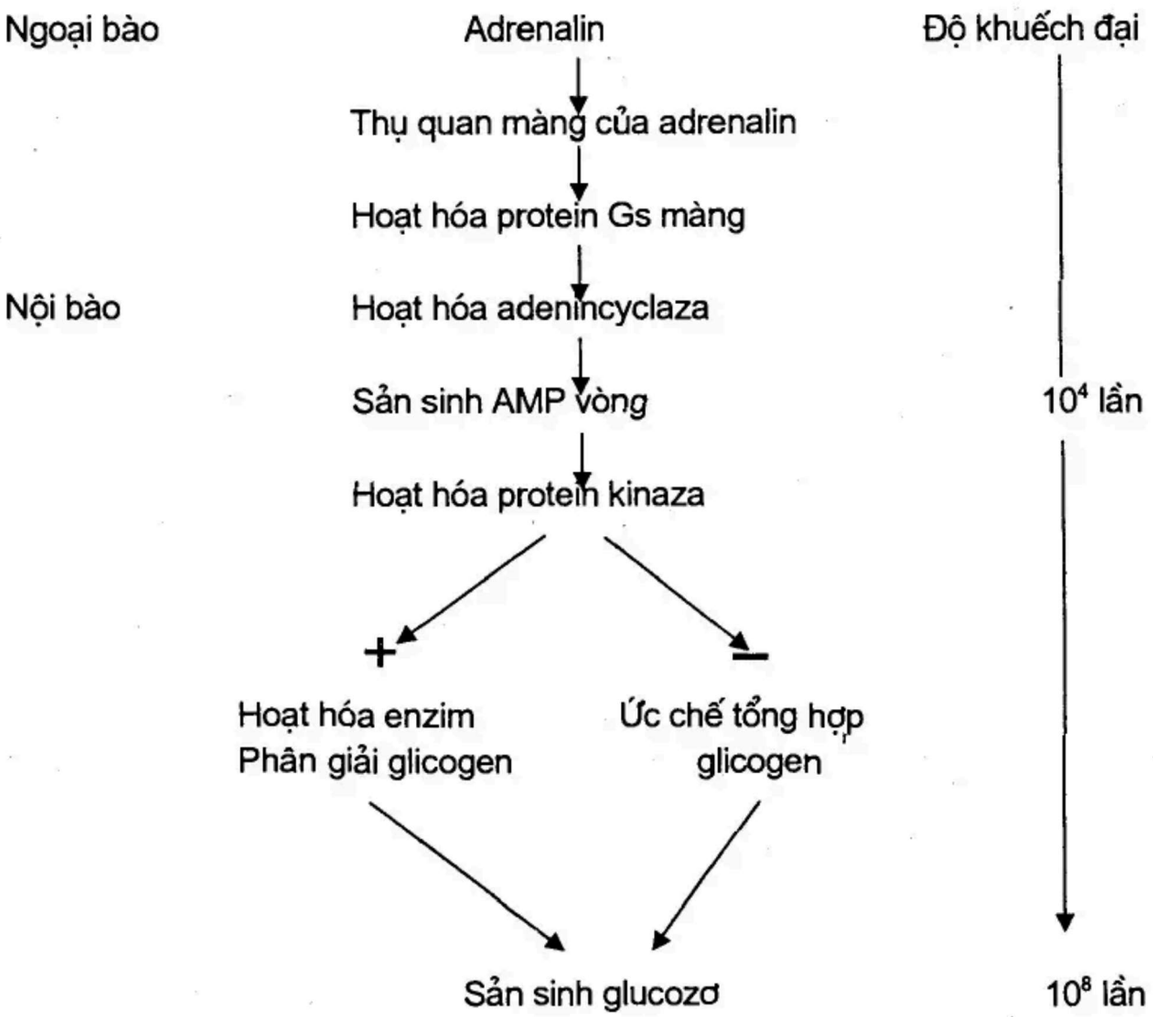
b) Thụ quan màng

Thụ quan màng là những protein hoặc glicoprotein đặc trưng khu trú trong màng. Chúng có khả năng thay đổi hình thù không gian và liên kết đặc trưng với các chất mang tín hiệu thông tin (thường được gọi là chất gắn-ligand). Thụ quan màng có tính đặc trưng đối với chất gắn và khi phức hệ thụ quan - chất gắn được hình thành chúng sẽ phát động những hiệu quả sinh lý như: mở các kênh ion để vận chuyển các ion, kích hoạt các enzim, hoạt hóa các protein trong dây chuyền trao đổi chất của tế bào, hoặc hoạt hóa các gen.

c) Cơ chế truyền đạt thông tin qua màng

– Các chất hòa tan trong nước:

Đa số các chất hóa học trung gian, các hoocmon, các chất trung gian thần kinh đều hòa tan trong nước. Chúng có tính đặc trưng và không thể trực tiếp đi qua màng. Chúng được các tế bào đích thu nhận nhờ các thụ quan đặc trưng khu trú trong màng và hoạt động theo những cơ chế sau (hình 3.9).



Hình 3.9. *Cơ chế hoạt động của thụ quan màng (đối với adrenalin)*

+ Chất gắn (ví dụ hoocmon adrenalin) liên kết với thụ quan màng đặc trưng (thụ quan của adrenalin). Thụ quan là protein xuyên màng có đầu thò ra ngoài, có tác dụng liên kết đặc trưng với chất gắn.

+ Thông tin được truyền qua chất trung là protein G khu trú trong màng kèm với thụ quan (có tên gọi là protein G bởi vì protein này được hoạt hóa bởi GTP (guanozintriphotphat)).

* Protein G khi được hoạt hóa sẽ phát động chuỗi phản ứng chức năng của tế bào như: điều hòa điện thế màng (mở hoặc đóng kênh ion), kích hoạt (hoặc ức chế) các phản ứng sinh hóa liên quan đến sự sinh trưởng và tăng sinh tế bào, làm hoạt hóa các gen. Thường có nhiều loại protein G: loại Gs có tác động hoạt hoá, còn loại Gi có tác động ức chế các phản ứng chức năng của tế bào.

* Nhiều trường hợp protein G không trực tiếp tác động đến các phản ứng chức năng của tế bào mà tác động gián tiếp qua các chất trung gian (những chất này được gọi là chất thông tin thứ hai, vì chất gắn là chất thông tin thứ nhất). Một trong những chất trung gian phổ biến và được nghiên cứu nhiều là *AMP vòng*. Protein G sẽ hoạt hóa enzim adenincyclaza hoặc enzim kinaza, các enzim này sẽ chuyển hóa ATP thành AMP vòng. Đến lượt mình AMP vòng kích hoạt các phản ứng chức năng của tế bào. Ví dụ, adrenalin tác động thông qua AMP vòng kích hoạt các enzim xúc tác phản ứng phân giải glicogen thành glucozơ làm tăng nồng độ glucozơ trong máu (hình 3.9).

Ngoài AMP vòng, các chất trung gian có thể là các chất khác như GMP vòng, NO, Ca^{2+}... Mục đích của sự tạo thành các chất trung gian (chất thông tin thứ 2 là để khuếch đại lượng thông tin làm tăng hoạt các phản ứng chức năng lên nhiều lần. Ví dụ, với lượng 1 phân tử adrenalin sẽ kích thích sản sinh ra 10^4 phân tử AMP vòng, và sản sinh ra 10^8 phân tử glucozơ từ glicogen.

+ Nhiều thụ quan màng là protein xuyên qua màng có đầu ngoài đặc trưng với chất gắn, còn đầu trong thò vào tế bào chất có chức năng như là enzim có hoạt tính của kinaza. Khi chất gắn (ví dụ hoocmon insulin) liên kết với thụ quan (thụ quan insulin) thì phần enzim kinaza của thụ quan trở nên có hoạt tính, cả phức hệ thụ quan - insulin sẽ được nhập bào và tạo ra bóng nhập bào đi sâu vào tế bào để kích hoạt các phản ứng chuyển hóa glucozơ (biến đổi glucozơ thành glicogen) làm giảm lượng glucozơ trong máu. Các thụ quan insulin có nhiều trong màng tế bào gan, tế bào cơ với số lượng từ 10^2 đến 10^5 trên mỗi tế bào.

+ Hoạt động thu nhận thông tin và truyền thông tin nhờ các thụ quan màng được tế bào điều chỉnh để thích nghi với trạng thái của tế bào cũng như với thay đổi của môi trường. Sự nhạy cảm với thông tin sẽ được tăng cao khi số lượng các thụ quan tăng, hoặc khi thụ quan được biến đổi ở trạng thái gắn kết với chất mang thông tin (chất gắn). Sự thiếu hoặc sai lệch trong phân tử thụ quan (sự thu nhận thông tin bị ức chế khi số lượng thụ quan giảm hoặc khi thụ quan ở trạng thái

không gắn kết với chất mang thông tin) sẽ gây trục trặc trong việc thu nhận và truyền đạt thông tin, do đó dẫn đến tình trạng bệnh lý. Ví dụ, bệnh đái tháo đường typ II (thường phát triển ở tuổi sau 40) có nguyên nhân sai lệch trong thụ quan của insulin nên insulin không truyền đạt được thông tin để phát huy tác dụng làm giảm lượng glucozơ trong máu (khác với đái tháo đường typ I là dạng có nguyên nhân thiếu hẳn insulin do tế bào β của đảo tụy không sản xuất được insulin, do sai lệch di truyền - được xuất hiện khi còn trẻ).

– Các chất hòa tan trong lipit:

Trường hợp các chất mang thông tin là các chất hòa tan trong lipit, ví dụ, các hoocmon steroit, vitamin D, retinoit... sẽ được vận chuyển qua màng và vào trong tế bào chất của tế bào. Ở đây chúng sẽ liên kết với các protein thụ quan nội bào tạo thành phức hệ hoocmon - thụ quan nội bào. Phức hệ này sẽ đi vào nhân tế bào và có tác động hoạt hóa các gen. Ví dụ, hoocmon *ecdison* xâm nhập vào tế bào tuyến nước bọt ruồi quả có tác dụng hoạt hóa các gen trong nhiễm sắc thể khổng lồ tạo nên ARN và protein, gây tác động biến thái giòi thành nhộng. Hoocmon *testosteron* xâm nhập vào tế bào sẽ hoạt hóa các gen sản sinh enzim và protein, gây phát triển các tính trạng sinh dục thứ phát ở nam giới.

3.3. Sự phân hóa của màng chất

Trong cơ thể đa bào, nhiều loại tế bào có màng sinh chất phân hóa về cấu trúc và biến dạng thành các phức hệ cấu tạo thích nghi với các chức năng khác nhau như tăng cường mối liên hệ giữa các tế bào ở cạnh nhau, tăng cường hấp thụ, chế tiết, dẫn truyền v.v...

a) Tăng cường mối liên kết giữa các tế bào cạnh nhau

Trong mô đa bào, các tế bào liên kết với nhau qua khoảng gian bào. Khoảng gian bào được giới hạn bởi màng của các tế bào cạnh nhau và chứa đầy các phân tử protein có chức năng kết dính các tế bào với nhau, gọi là adherin - là một glicoprotein. Chất dịch gian bào đóng vai trò cơ học giữ cho các tế bào ổn định trong tổ chức mô học, đồng thời cũng đóng vai trò tích cực trong các hoạt động của tế bào như trao đổi chất, di chuyển và sinh sản v.v...

Qua khoảng gian bào, màng các tế bào cạnh nhau được liên kết với nhau nhờ các nối kết gian bào (intracellular junction), ở vùng nối kết gian bào có sự thay đổi về cấu tạo và hình dạng của màng sinh

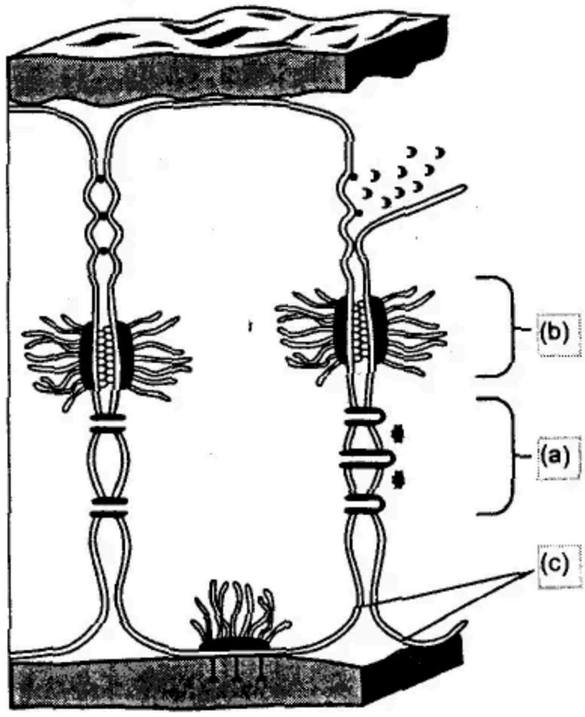
chất, có sự tham gia của các protein liên kết và sự tạo thành phức hệ phức tạp các vi sợi actin trong tế bào chất.

Tùy tính chất và cấu tạo, người ta phân biệt ba loại nối kết gian bào:

– Các cầu nối gian bào hay nối kết thông thương (junction-gap) (hình 3.10a) là những nối kết giữa hai tế bào cạnh nhau mà ở đó hai màng sinh chất tiếp cận nhau sít đến nỗi không thể phân biệt được hai màng, vì khoảng gian bào chỉ hẹp có 2-3nm, như thể các cầu nối thông thương giữa hai tế bào, tạo nên bởi bảy lớp gồm 4 lớp ưa nước và 3 lớp ghét nước. Các cầu nối có được là nhờ sự liên kết của protein - connexin tạo nên các kênh thông thương tồn tại trong màng của cả hai tế bào.

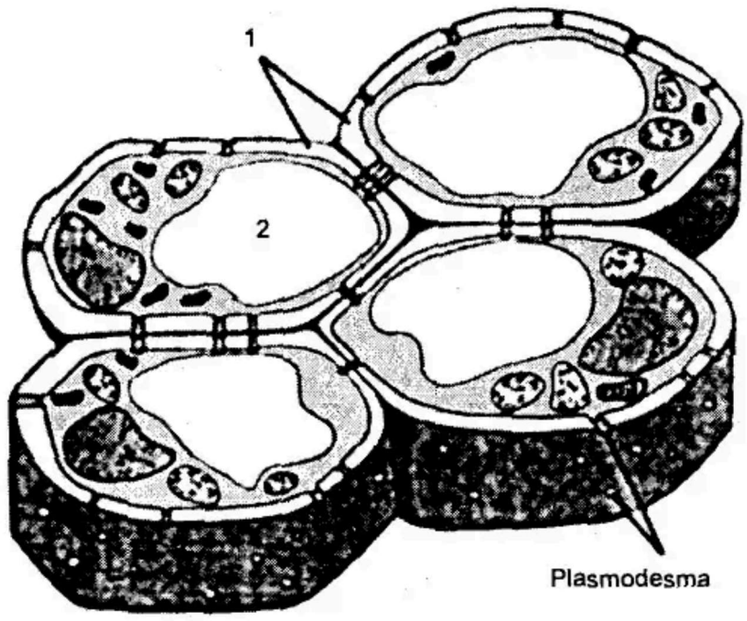
Cầu nối gian bào cho phép hai tế bào cạnh nhau trao đổi chất một cách trực tiếp, nhanh chóng và nhờ cầu nối mà các tế bào cạnh nhau có được sự hợp tác trong trao đổi cnất. Ví dụ, AMP vòng có thể qua cầu nối gian bào từ tế bào này vận chuyển sang tế bào khác, do đó tăng cường nhanh chóng sự phân giải glicogen để giải phóng glucozơ vào máu.

– Các nối kết vững chắc hay thể nối (hay thể dây chằng) (desmosome) là kiểu nối kết trong đó có sự thay đổi hình dạng màng sinh chất, có sự tham gia của protein liên kết và cả sự tham gia của phức hệ vi sợi tế bào chất làm cho nối kết ổn định và vững chắc. Kiểu nối kết này có vai trò tăng cường độ liên kết giữa hai tế bào cạnh nhau về cơ học và qua phần nối kết không có sự trao đổi chất giữa hai tế bào (hình 3.10b).



Hình 3.10. *Nối kết thông thương (a) và thể dây chằng desmosome (b) giữa các tế bào biểu bì da; màng sinh chất (c)*

– Các nối kết tế bào chất hay cầu nối sinh chất (plasmodesma): Ở tế bào thực vật, ngoài màng sinh chất, còn được bao bởi thành xenlulozơ, vì vậy, để bảo đảm độ liên kết và trao đổi giữa các tế bào ơ cạnh nhau, có cấu trúc nối kết plasmodesma. Ở đây màng sinh chất và thành xenlulozơ thay đổi và tạo nên những cầu nối tế bào chất, qua đó hai tế bào có thể trao đổi chất trực tiếp cho nhau (hình 3.11).



Hình 3.11. *Cầu nối sinh chất giữa các tế bào thực vật*
1. Thành tế bào; 2. Không bào.

b) Tăng cường hấp thụ và chế tiết

Các vi mao (microvilli) ở một số tế bào phân hóa như tế bào biểu mô ruột, tế bào ngoại tiết, màng sinh chất cùng tế bào chất ở phần đỉnh tế bào đã bị biến đổi tạo thành các vi mao (microvilli) là những phần lồi của màng kéo theo tế bào chất như kiểu lông nhỏ.

Vi mao có đường kính từ 80-100nm và chiều dài 0,6 - 0,8µm, mỗi tế bào biểu mô ruột có tới 3000 vi mao phủ lấy phần đỉnh tế bào (trước đây với kính hiển vi quang học, lớp vi mao được mô tả như là "nếp viền"). Vi mao được bao bởi lớp màng sinh chất có độ dày 9 - 11nm, bên trong là tế bào chất chứa bó sợi gồm 10 - 50 vi sợi actin có vai trò nâng đỡ vi mao. Với cấu tạo vi mao, bề mặt tiếp xúc của màng được tăng lên và sự hấp thụ của tế bào được tăng lên nhiều lần (trên $1mm^2$ bề mặt biểu mô ruột có đến 200 triệu vi mao).

Đối với nhiều loại tế bào biểu mô, màng sinh chất ở phần nền thường là phẳng, nhưng đối với một số loại, ví dụ, tế bào biểu mô ống thận có vai trò tích cực trao đổi chất thì màng sinh chất lõm sâu vào khối tế bào chất tạo thành những ô cách nhau và trong các ô chứa nhiều ty thể. Sự phân ô rất phát triển ở các tế bào của tuyến ngoại tiết như tuyến mang tai, tuyến muối của bọn chim biển. Sự phân ô làm tăng diện tích bề mặt của màng đáp ứng sự vận chuyển tích cực của các chất (ví dụ bọn chim biển thường uống nước biển và cần phải bài xuất một lượng muối rất lớn ra khỏi tế bào).

CÂU HỎI KIỂM TRA KIẾN THỨC (ĐÚNG, SAI)

(Chương III. Cấu trúc, chức năng màng sinh chất)

1. Vi khuẩn, tế bào động vật, tế bào thực vật đều có màng sinh chất.
2. Lipit và protein là cấu thành chủ yếu của màng sinh chất.
3. Photpholipit cấu tạo nên lớp kép của khung lipit.
4. Colesterol trong màng càng nhiều thì màng càng lỏng lẻo.
5. Protein xếp thành hai lớp ngoài và trong khung lipit.
6. Protein xuyên màng chạy xuyên qua màng một hoặc nhiều lần.
7. Protein rìa ngoài thường liên kết với gluxit.
8. Protein rìa trong thường liên kết với protein tế bào chất.
9. Protein màng có vai trò là enzim, là bơm ion hoặc là receptor.
10. Màng sinh chất là màng cứng chắc.
11. Tính linh hoạt của lipit và protein màng quy định nên tính linh hoạt của màng.
12. Sự trao đổi thụ động đòi hỏi tiêu phí năng lượng.
13. Hồng cầu trong dung dịch đẳng trương sẽ bị vỡ tan.
14. Sự hoạt tải đòi hỏi tiêu phí năng lượng.
15. Bơm Na-K sử dụng năng lượng ATP để vận chuyển các ion Na và K.
16. Bơm proton dùng để chuyên chở canxi.
17. Sự thực bào là sự nhập các chất rắn, vi khuẩn vào tế bào nhờ chân giả.
18. Hồng cầu có tính thực bào mạnh đối với vi khuẩn.
19. Receptor màng không có tính đặc trưng.
20. Protein G là chất truyền đạt thông tin từ receptor đến adenincyclaza.
21. Các hoocmon steroid liên kết với các receptor trong tế bào chất và có tác động đến hoạt hoá gen.
22. Vách glucocalix được cấu tạo gồm clatrin và actin.
23. Vách murein có ở tế bào động vật.
24. Vách xenlulozơ ở tế bào thực vật.
25. Xenlulozơ là polisaccarit gồm nhiều phân tử glucozơ.
26. Plasmodesma là cầu nối tế bào chất ở tế bào amip.
27. Desmosome là thể nối chắc giữa hai tế bào biểu bì.
28. Lớp gluxit ở rìa ngoài màng có vai trò gắn kết các tế bào với nhau.
29. Các vi mao có cấu tạo vi ống theo kiểu 9+2.

Chương IV

TẾ BÀO CHẤT VÀ CÁC BÀO QUAN

I- KHÁI NIỆM VỀ TẾ BÀO CHẤT VÀ BÀO QUAN

1.1. Khái niệm về tế bào chất

Người ta thường gọi nguyên sinh chất (protoplasma) là khối chất sống tạo nên tế bào. Nguyên sinh chất bao gồm tế bào chất (cytoplasma) là khối nguyên sinh chất định khu phía trong màng sinh chất bao quanh nhân và chất nhân (caryoplasma) - là khối nguyên sinh chất tạo nên nhân.

Tế bào chất là khối dung dịch keo loại chứa nhiều cấu trúc phức tạp như các bào quan, các chất ẩn nhập dự trữ, các vi sợi và vi ống tạo nên bộ khung xương của tế bào.

1.2. Khái niệm về bào quan

Bào quan là cấu trúc siêu vi định khu tại từng vùng riêng biệt trong tế bào chất và thực hiện một chức năng nhất định.

Bảng 4.1. Phân biệt sự khác nhau trong cấu trúc và chức năng của các dạng bào quan trong tế bào chất

Bào quan	Cấu trúc	Chức năng
Ty thể	Màng kép	Hô hấp tế bào
Lục lạp	Màng kép	Quang hợp
Mạng lưới nội chất trơn	Màng đơn	Vận chuyển nội bào, tổng hợp lipit, chuyển hóa cacbohydrat.
Mạng lưới nội chất hạt	Màng đơn có đính riboxom	Vận chuyển nội bào Tổng hợp protein
Bộ máy Golgi	Màng đơn	Đóng gói, chế tiết các sản phẩm protein, glicoprotein
Lizoxom	Màng đơn, dạng bóng	Tiêu hoá nội bào
Không bào	Màng đơn, dạng bóng	Tạo sức trương, dự trữ các chất
Riboxom	Không màng	Tổng hợp protein
Trung thể	Không màng	Phân bào

1.3. Khái niệm về bào tương (Cytosol)

Đối với tế bào vi khuẩn; khái niệm bào tương thường được dùng như tế bào chất, vì trong tế bào chất của chúng không chứa các bào quan phức tạp. Đối với tế bào nhân chuẩn, bào tương là khối tế bào chất đã được tách bỏ hết bào quan. Đó là dung dịch nước (nước chiếm đến 85%) chứa rất nhiều các chất khác nhau: các ion, các chất hữu cơ khác nhau (axit amin, axit béo, glixerol, đường...), các đại phân tử (protein, enzim, axit nucleic), các chất ẩn nhập. Ngoài ra trong bào tương còn chứa các phức hợp protein tạo nên các vi sợi (microfilament) và vi ống (microtubule) tạo nên khung xương của tế bào có chức năng nâng đỡ và vận động. Bào tương của tế bào chứa các đại phân tử chủ yếu là protein - là dung dịch keo loại (colloidal solution) - thể hiện nhiều đặc tính lý hóa của chất sống, ví dụ, trạng thái lỏng (sol) và trạng thái keo sệt (gel), độ nhớt, tính vận động amip... Trong bào tương diễn ra nhiều quá trình chuyển hóa vật chất và năng lượng quan trọng: quá trình đường phân, quá trình phân giải protein, quá trình phân giải và tổng hợp các chất hữu cơ khác nhau như axit amin, nucleotit, gluxit và lipit. Tuy nhiên các quá trình sống chỉ diễn ra bình thường và toàn vẹn trong tế bào với sự tham gia của các cấu trúc nội bào dưới sự điều chỉnh chung trong nội bộ tế bào và cơ thể, cũng như trong mối quan hệ với môi trường sống.

1.4. Chất ẩn nhập

Chất ẩn nhập (còn gọi là chất chứa - paraplasma) là những chất dự trữ tạm thời của tế bào, được xuất hiện hoặc biến mất do kết quả của quá trình trao đổi chất trong tế bào. Các chất ẩn nhập rất đa dạng về hình thái và bản chất hóa học. Đó có thể là các chất tiết, các chất dự trữ dinh dưỡng, các sản phẩm của trao đổi nội bào, mà số lượng thay đổi tuỳ thuộc vào trạng thái sinh lý của tế bào. Các chất ẩn nhập có thể ở dạng hạt, giọt, không bào và có thể là hạt protein (ví dụ trong tế bào gan, trong nội nhũ của hạt thực vật), có thể là giọt lipit (trong các tế bào mỡ), hoặc có thể là hạt tinh bột (trong các hạt thực vật), là hạt glicogen (trong tế bào cơ).

Tế bào chất của một số tế bào có sự phân hóa thành lớp ngoại chất (ectoplasma) nằm ở phía ngoại vi, mỏng hơn, có độ nhớt cao, và lớp nội chất (endoplasma) ở phía trong bao quanh nhân thường có chứa các bào quan và chất ẩn nhập.

II- TY THỂ (Mitochondria)

Ty thể là bào quan có chức năng chuyển hoá năng lượng tích trong chất dinh dưỡng thành năng lượng trong ATP. Ty thể có trong tất cả tế bào nhân chuẩn. Ty thể được Atman phát hiện vào năm 1894 và đến năm 1897 được Benda đặt tên là *mitochondria* (theo tiếng Hy lạp – *mito* là sợi và *chondria* là hạt) vì chúng thường có dạng sợi, hoặc dạng hạt khi quan sát dưới kính hiển vi thường.

2.1. Cấu trúc của ty thể

a) Cấu trúc hiển vi

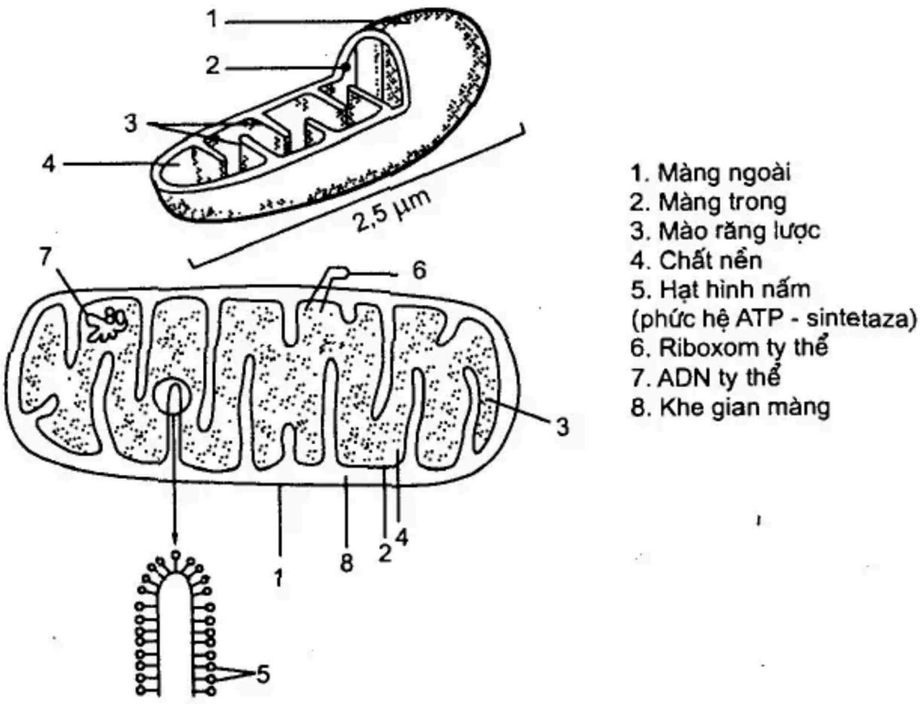
Dưới kính hiển vi thường, ty thể thường có dạng hạt, hoặc sợi là do ty thể rất dễ dàng biến đổi hình dạng theo sự biến đổi của tình trạng sinh lý của tế bào như áp suất thẩm thấu, độ pH, tình trạng bệnh lý... Ở trạng thái bình thường, ty thể có dạng hình trứng với đường kính 0,5-2μm và dài 7-10μm. Ty thể có nhiều trong các tế bào tích cực chuyển hoá năng lượng, ví dụ, tế bào gan, tế bào cơ... Tế bào gan có khoảng 1500 ty thể (chiếm 22% khối lượng tế bào). Trong tế bào, ty thể thường được phân bố đồng đều trong tế bào chất (tế bào gan), hoặc tập trung ở vùng tế bào chất mà ở đó tế bào cần nhiều năng lượng để hoạt động sống. Ví dụ, trong tế bào ống thận, ty thể có nhiều ở vùng đáy; trong sợi cơ vân ty thể phân bố giữa các đĩa A của tơ cơ; trong tế bào que của võng mạc, ty thể tập trung ở phần đốt trong. Đối với tinh trùng, ty thể tập trung ở phần cổ nơi cung cấp năng lượng cho hoạt động co rút của đuôi tinh trùng. Ty thể là loại bào quan rất linh hoạt và nhạy cảm với các nhân tố như áp suất thẩm thấu, độ pH, tình trạng sinh lý và bệnh lý của tế bào. Chúng có thể biến đổi hình dạng và di chuyển từ vùng này sang vùng khác, tăng hoặc giảm số lượng. Tế bào tiết khi ở trạng thái tiết số lượng, ty thể được tăng thêm. Trong tế bào gan chuột bị ung thư, ty thể bị giảm. Trong tế bào, ty thể luôn được đổi mới, ty thể có thời gian nửa sống là 10-20 ngày. Ty thể già, hư hỏng sẽ bị phân hủy trong lizoxom. Ty thể mới được sinh ra từ ty thể mẹ có sẵn. Trong thời kỳ phân bào, ty thể được phân bố đồng đều cho hai tế bào con ở giai đoạn phân tế bào chất.

Ty thể có cấu trúc siêu vi và phân tử tương đối giống nhau ở tế bào thực vật cũng như động vật. Ty thể được cấu tạo từ màng kép gồm màng ngoài và màng trong và đều có bản chất là màng lipoprotein,

bao lấy khối chất nền (matrix) ở phía trong. Màng ngoài và màng trong ty thể giới hạn xoang gian màng, cách biệt với xoang trong (chất nền) bởi màng trong. Màng trong mọc lồi vào chất nền tạo nên các mấu lồi hình răng lược gọi là mào (crista) (hình 4.1)

Ty thể chứa protein (65-70%) và lipit (25-30%). Ngoài ra trong ty thể còn có ADN và ARN.

b) Màng ngoài. Màng ngoài ty thể là màng lipoprotein có độ dày 6nm chứa nhiều protein xuyên màng (chiếm khoảng 60%) và lipit (40%). Tỷ lệ giữa colesterol/photpholipit là 1/8. Màng ngoài chứa nhiều kênh ion, các protein mang để vận chuyển các ion và các chất với khối lượng phân tử dưới 1000D.



Hình 4.1. *Cấu tạo của ty thể*

Trong màng ngoài chứa nhiều enzim khác nhau: transferaza, kinaza, cytocrom b, cytocrom-reductaza, photphataza, photpholipaza.

b) Xoang gian màng. Xoang gian màng rất hẹp phân bố vào các mào răng lược, là nơi trung chuyển các chất giữa màng ngoài và màng trong. Ngoài ra xoang gian màng chứa nhiều proton H^+ được vận chuyển đến từ xoang chất nền do hoạt động của các phức hợp chuyền electron. Trong xoang gian màng chứa nhiều protein tham gia vào quá trình tự chết theo chương trình của tế bào (apoptosis).

c) Màng trong của ty thể. Màng trong của ty thể cũng là màng lipoprotein khác với màng ngoài không chỉ ở chỗ chúng chứa nhiều protein hơn màng ngoài (protein chiếm 80% và lipit chiếm 20%), mà còn ở chỗ chúng mọc sâu vào chất nền tạo nên các mào, do đó làm tăng bề mặt của màng trong lên ba lần so với màng ngoài. Số lượng mào của màng trong tỷ lệ với cường độ chuyển hóa năng lượng ATP của tế bào. Tế bào cơ tim hoạt động nhiều đòi hỏi tiêu phí nhiều ATP có số lượng mào ty thể nhiều gấp ba lần so với ty thể tế bào gan là tế bào tiêu thụ năng lượng ít hơn.

Màng trong của ty thể (màng của mào) chứa rất nhiều loại protein có chức năng rất khác nhau:

– Protein vận chuyển chủ động các chất (ATP, ADP, ion photphat, proton H^+, piruvat, axit béo, nucleotit...) từ xoang gian màng vào trong chất nền ty thể.

– Protein màng và protein kênh có chức năng vận chuyển các ion (Na^+, K^+, Ca^{2+} và H^+).

– Các phức hợp của dãy chuyền electron.

– Phức hợp Fo - F1 (ATP-sintetaza) có chức năng tổng hợp ATP.

– Cytocrom P450 định vị trong màng trong có phần hoạt tính thò vào chất nền ty thể.

d) Chất nền ty thể. Chất nền ty thể còn được gọi là xoang trong, chứa rất nhiều thành phần khác nhau có vai trò quan trọng đối với ty thể:

– Các enzim có chức năng oxy hóa axit piruvic sản sinh ra axetil - coenzim A.

– Các enzim của chu trình Crep.

– Các enzim tổng hợp các axit béo.

– Riboxom ty thể: Riboxom ty thể khác với riboxom của tế bào và tương tự như riboxom của vi khuẩn về kích thước, thành phần rARN và protein.

– ADN ty thể - mtADN là phân tử ADN trần dạng vòng giống ADN của vi khuẩn. Trong ty thể có từ 5-10 phân tử mtADN.

– Các dạng ARN ty thể.

Ngoài ra trong chất nền còn chứa nhiều ion khác nhau (canxi, magie, proton...), các chất vô cơ và các chất hữu cơ khác nhau.

2.2. Chức năng của ty thể

Ty thể là bào quan có nhiều chức năng quan trọng đối với tế bào:

a) Ty thể là nhà máy sản sinh ATP: Ty thể có vai trò rất quan trọng trong hô hấp hiếu khí, nghĩa là khi có oxy, ty thể sẽ chuyển hoá năng lượng có trong chất dinh dưỡng thành năng lượng trong ATP là dạng năng lượng mà tế bào có thể sử dụng được. Cấu trúc siêu vi và định khu phân tử của ty thể rất phù hợp với chức năng hô hấp hiếu khí của ty thể, gồm:

- Chu trình Crep xảy ra nhờ các enzim định khu trong chất nền.
- Các điện tử (electron) giải phóng từ chu trình Crep được truyền qua dãy chuyền điện tử định khu trong màng trong.
- Sự tổng hợp ATP nhờ phức hệ ATP-sintetaza định khu trong màng trong (xem phần chuyển hóa vật chất và năng lượng).

b) Ty thể tham gia các quá trình trao đổi chất: Ty thể tham gia vào các quá trình chuyển hóa các chất bằng cách phối hợp với các bào quan khác như tổng hợp các hoocmon steroid, các photpholipit và colesterol, các axit amin. Ty thể tham gia điều hòa nồng độ ion canxi trong tế bào.

c) Ty thể tham gia vào quá trình tự chết của tế bào bằng cách giải phóng vào tế bào chất các nhân tố (ion Ca^{2+}, cytochrome C) có tác dụng hoạt hóa các enzim caspaza và enzim endonucleaza gây tự chết theo chương trình của tế bào (apoptosis).

d) Trong chất nền ty thể có đủ các dạng ARN và riboxom cho nên ty thể có thể tự mình tổng hợp được một số protein riêng cho ty thể.

2.3. Sự phát sinh của ty thể

Ngày nay người ta đã chứng minh rằng ty thể mới được hình thành do sự phân chia của ty thể có sẵn trước đó. Các ty thể mới được tạo thành có kích thước bé, sau đó chúng tăng trưởng để đạt được kích thước bình thường.

Ty thể có chứa ADN do đó nó là một hệ di truyền tự lập khác với hệ di truyền của nhân tế bào, trong ty thể có riboxom và các loại ARN cần thiết tạo cho ty thể có hệ tổng hợp riêng của mình.

a) ADN ty thể (mtADN)

mtADN là sợi xoắn kép có cấu trúc vòng, có chiều dài chừng 5µm, mtADN của nấm men có thể đạt kích thước 26µm. Trong tế bào,

mtADN chiếm từ 1-5% ADN của tế bào. Ví dụ, trong tế bào gan người, số phân tử mtADN trong một ty thể là 5, mỗi phân tử chứa khoảng 16600 cặp nucleotit, chúng nằm trong chất nền định khu cạnh các mào và thường liên kết với mào, mtADN tự tái bản theo kiểu bán bảo thủ nhờ hệ ADN polimeraza có trong chất nền ty thể và xảy ra ở gian kỳ của chu kỳ tế bào. mtADN có dạng vòng và không liên kết với histon, điều này làm cho mtADN khác với ADN của nhân tế bào và mtADN tương tự với ADN của vi khuẩn. mtADN là một trong các nhân tố quy định tính di truyền tế bào chất. Đối với con người, mtADN là nhân tố di truyền theo mẹ bởi vì chỉ có tế bào trứng có khối tế bào chất lớn và chứa nhiều ty thể (ở tinh trùng ty thể chỉ có ở phần cổ và khi thụ tinh chỉ có đầu tinh trùng xâm nhập vào tế bào trứng, còn phần cổ bị loại bỏ, nếu nó được xâm nhập vào trứng, cũng bị tiêu hủy bởi lizoxom).

Ngoài ra bộ mã của gen trong mtADN có ít nhiều khác với bộ mã chung, ví dụ, codon *UAG* là *codon kết thúc* ở bộ mã chung thì đối với ty thể (người) thì đó lại là *codon của triptophan*.

Đột biến xảy ra trong mtADN gây nên nhiều bệnh tật, nhất là đối với hệ thần kinh và hệ cơ. Tần số sai lệch trong mtADN cũng tăng theo tuổi già.

Công nghệ sinh học sử dụng mtADN trong công tác pháp y cũng như phân tích mối quan hệ chủng loại phát sinh của các loài thân thuộc.

b) ARN ty thể

Người ta đã tìm thấy trong ty thể các dạng ARN như ARN - riboxom (rARN), ARN thông tin (mARN) và ARN vận tải (tARN). Riboxom của ty thể có kích thước bé vào khoảng 60S và gồm 2 đơn vị là 30S và 45S gần giống riboxom vi khuẩn. Trong chất nền, ty thể có chứa đủ các tARN cần thiết cho sự vận chuyển các axit amin trong việc tổng hợp protein của ty thể. Các ARN thông tin được phiên mã trong chất nền nhờ enzim ARN polimeraza từ khuôn của mtADN.

c) Sự tổng hợp protein trong ty thể

Nhờ có đủ các nhân tố riêng của mình (mtADN, mARN, tARN và riboxom) nên ty thể có thể tự tổng hợp các protein cho mình. Sự tổng hợp protein cũng diễn ra trên riboxom theo cơ chế chung, nhưng axit amin khởi động, giống như ở *Bacteria* là N-focmyl-methionin, chứ không phải methionin như ở tế bào Eucaryota. Ty thể không tự tổng hợp tất cả protein của ty thể bởi vì mtADN chỉ chứa lượng nucleotit mã hóa cho khoảng 5000 axit amin. Rất nhiều protein của ty thể được

tổng hợp từ mạng lưới nội chất có hạt trong tế bào chất theo mã của các gen trong nhiễm sắc thể của nhân, sau đó được vận chuyển vào ty thể. Ty thể tự tổng hợp một số protein không hòa tan cần cho màng trong và một số protein có chức năng điều chỉnh quá trình hoạt hóa các gen ty thể của nhân tế bào (gen chứa mã cho các protein ty thể).

Như vậy ta thấy có một sự liên quan chức năng chặt chẽ giữa nhân và ty thể trong sự tổng hợp các protein của ty thể, tuy nhiên có sự khác nhau giữa hoạt động tổng hợp protein trong ty thể và trong tế bào chất. Cũng giống như ở *Bacteria*, chất chloramphenicol ức chế sự tổng hợp protein trong ty thể, trong lúc đó chloramphenicol không có tác động lên sự tổng hợp protein trong tế bào chất. Trái lại chất cycloheximid là chất ức chế mạnh đối với sự tổng hợp protein trong tế bào chất lại không có tác động đối với sự tổng hợp protein trong ty thể.

d) Chủng loại phát sinh ty thể

Trước đây có giả thuyết cho rằng, trong quá trình tiến hóa của tế bào thì ty thể có nguồn gốc từ sự phân hóa của màng sinh chất ăn sâu vào tế bào chất, về sau tách ra và phức tạp hóa hệ thống mào trở thành một bào quan độc lập, với dẫn chứng là nhiều bọn vi khuẩn có cấu trúc mezoxom - là một phần của màng sinh chất gấp nếp ăn sâu vào tế bào chất, có chứa các enzim và nhân tố của sự hô hấp hiếu khí - đó là hình ảnh của ty thể ở dạng nguyên thủy. Nhưng hiện nay người ta công nhận giả thuyết "cộng sinh" về nguồn gốc chủng loại của ty thể. Sự xuất hiện ty thể trong tế bào Eucaryota là kết quả cộng sinh của một dạng vi khuẩn hiếu khí với tế bào. Dẫn chứng thuyết phục nhất là trong ty thể có chứa ADN giống ADN của vi khuẩn, riboxom của ty thể về kích thước và rARN giống với riboxom vi khuẩn, và đặc biệt là cơ chế và hoạt động tổng hợp protein trong ty thể có nhiều đặc điểm giống với vi khuẩn (axit amin khởi động là N. focmylmethionin; sự tổng hợp bị ức chế bởi chloramphenicol v.v...).

2.4. Biến đổi bệnh lý của ty thể

Trong tình trạng bệnh lý của tế bào (viêm gan siêu vi trùng, viêm gan do rượu, ung thư, thiếu hụt dinh dưỡng, thiếu vitamin, ngạt oxy, nhiễm độc v.v...) ty thể bị biến đổi về hình dạng, về kích thước, về cấu trúc và phân bố của "mào", về chất chứa trong chất nền cũng như trong xoang ngoài.

Từ dạng hình trứng bình thường, ty thể có thể bị biến dạng sang hình chẻ đôi, hình chùy, hình nhẫn v.v... Kích thước của ty thể trong

tình trạng hoạt động quá mẫn cảm và bệnh lý trở thành ty thể "khổng lồ", đạt tới kích thước 4-5mm, hoặc ty thể teo đặc lại và thoái hóa. Khi ty thể thoái hóa, hệ mào bị biến đổi, co ngắn và tiêu biến, chất nền bị không bào hóa, hệ màng biến mất, chất nền tan vào tế bào chất. Các mảnh của ty thể có thể bị phân giải nhờ lizoxom trong tế bào chất. Ở trạng thái bệnh lý, ty thể có thể tích lũy trong chất nền các chất dư thừa ở dạng các hạt, tinh thể, sợi, ống và tấm, đặc biệt tích lũy nhiều hạt glicogen (ví dụ trong các bệnh về tim mạch).

III- LỤC LẠP

Lục lạp (chloroplast) là bào quan chỉ có ở tảo và thực vật có vai trò quan trọng trong sự chuyển hoá năng lượng ánh sáng thành năng lượng tích trong các chất hữu cơ. Ở thực vật, lục lạp có trong các bộ phận xanh của cây nhưng có chủ yếu ở lá (trong các tế bào trung diệp - mesophill) với số lượng lớn. Ví dụ, trong mỗi tế bào trung diệp của lá cây thầu dầu chứa khoảng 40 lục lạp có dạng hình trứng với kích thước chiều ngang 2 - 4μm, chiều dài 4 - 7μm.

3.1. Thành phần hóa học

Ngày nay nhờ những phương pháp sinh hóa và lý sinh người ta đã biết rõ thành phần hóa học của lục lạp, ở bảng 4.2 chỉ rõ thành phần hóa học của lục lạp thực vật bậc cao.

Bảng 4.2. Thành phần hóa học của lục lạp

Chất	Hàm lượng% khối lượng khô	Các cấu thành
Protein	35-55	Khoảng 80% không hoà tan
Lipit	20-30	Mỡ 50%, colin 46%, sterin 20%, inozitol 22%, sáp 16%, glixêrin 22%, photphatit 2-7%, etanolamin 8%
Gluxit	Thay đổi	Tinh bột, đường có photphat có chứa từ 3-7 nguyên tử C
Clorophyl	9	Clorophyl *a* 75%
		Clorophyl *b* 75%
Carotinoit	4,5	Xantophyl 75%, carotin 25%
ARN	2-4	
ADN	0,2-0,5	

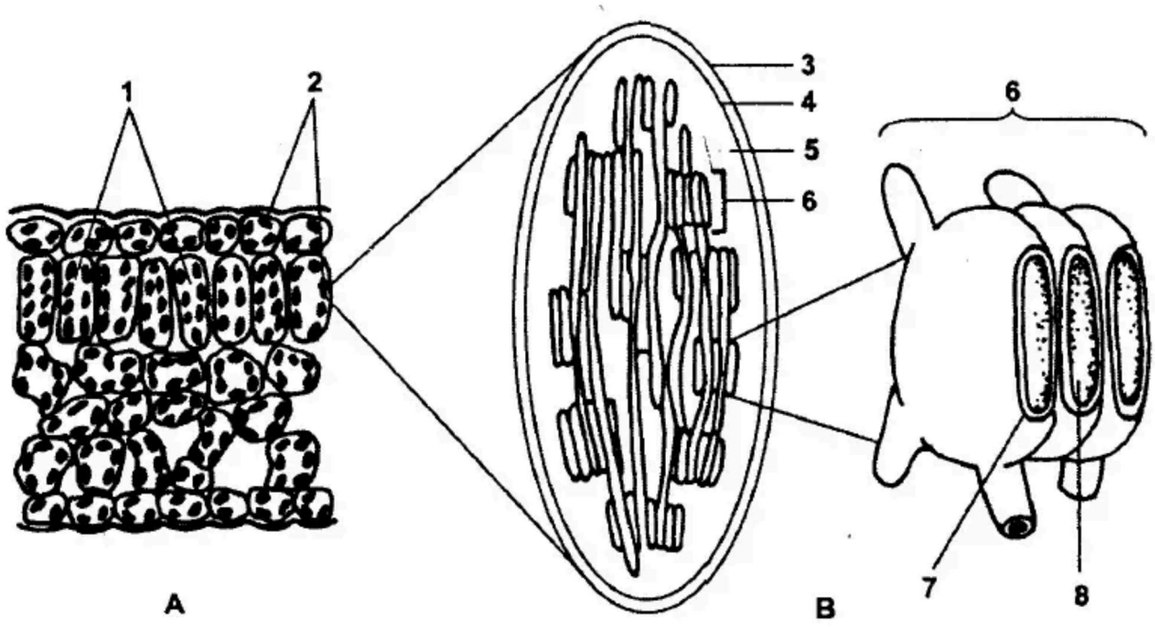
Trong lục lạp có đến 80% là loại protein không hòa tan có liên kết với lipit ở dạng lipoprotein. Như vậy đa số protein thuộc protein cấu trúc, nhưng một số lớn protein là các enzim, các enzim trong lục lạp có thể ở dạng hòa tan hoặc có trong cấu trúc của màng lục lạp. Thuộc lipit có mỡ trung tính, các steroid và photpholipit. Một trong những thành phần sinh hóa quan trọng của lục lạp là clorophyl. Phân tử clorophyl có cấu trúc không đối xứng gồm một "đầu" ưa nước được hình thành từ 4 vòng pirol xếp xung quanh nguyên tử magie (Mg) và một "đuôi" dài là mạch ghét nước (gọi là mạch fiton) (hình 4.2) Clorophyl cũng giống sắc tố ở động vật, ví dụ, hemoglobin và cytocrom đều là những pocfirin, chỉ khác là trong phân tử của chúng nguyên tử Fe được thay bằng Mg. Ngoài clorophyl ra, còn có các carotinoit là những sắc tố có màu khác nhưng thường bị màu lục của clorophyl che lấp và chỉ về mùa thu ta mới thấy, vì khi đó hàm lượng clorophyl bị giảm đi. Thuộc carotinoit có carotin và xantophyl. Carotin có đặc tính ở chỗ mạch hydrocacbua chưa no ngắn, do đó chúng có tính chất hoàn toàn ghét nước, còn xantophyl thì trái lại, có chứa vài nhóm ưa nước.

Trong lục lạp có chứa axit nucleic. Ngoài ARN (có hàm lượng từ 2 - 4% khối lượng khô) còn có ADN, tuy với hàm lượng ít (0,2 - 0,5%) nhưng đóng vai trò quan trọng và đáng chú ý, vì sự có mặt của ADN trong lục lạp có liên hệ với hệ thống di truyền ngoài nhiễm sắc thể (di truyền tế bào chất) và hệ tự tổng hợp protein của lục lạp. Trong lục lạp có các chất truyền năng lượng và các enzim, NADP, cytocrom, plastokinon, plastoxianin, ferredoxin, reductaza, ATP - sintetaza và các enzim của chu trình Calvin.

3.2. Cấu trúc hiển vi của lục lạp

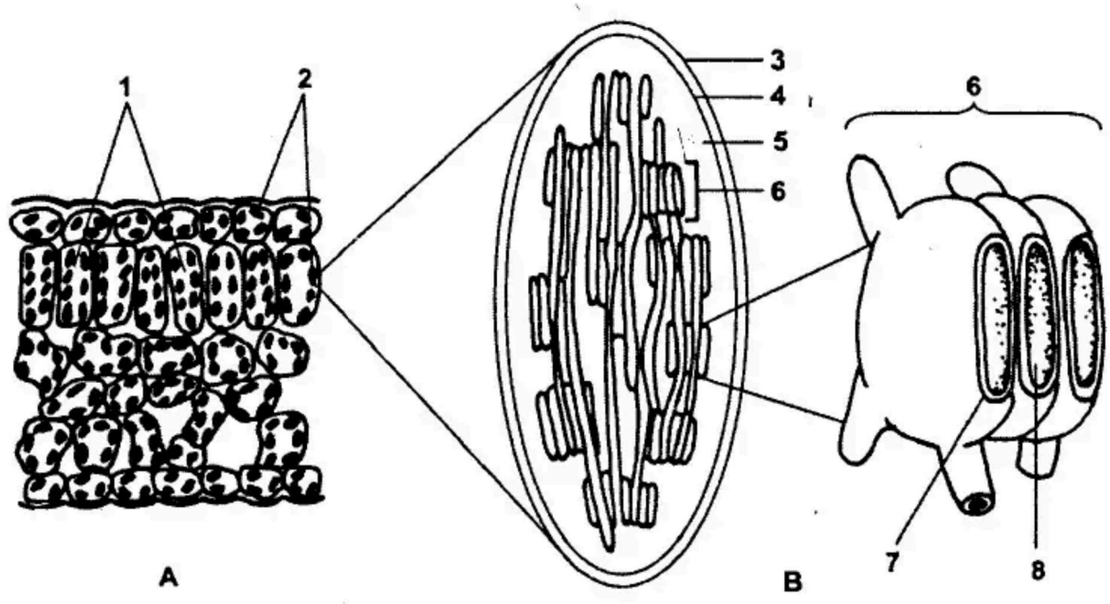
Các dẫn liệu về kính hiển vi thường, hiển vi đối pha, hiển vi phân cực và nhất là hiển vi điện tử đã cho ta biết rõ cấu trúc hiển vi và siêu hiển vi của lục lạp. Lục lạp được bao bởi 2 màng lipoprotein là: màng ngoài và màng trong. Hai màng này được phân cách bởi khe gian màng: Khác với ty thể, màng trong của lục lạp trơn (không có mào). Phần dịch được giới hạn bởi màng trong gọi là chất nền (stroma). Trong chất nền có chứa nhiều hạt hình cầu có kích thước 15 - 20nm là các riboxom lục lạp và các hạt tinh bột với kích thước khác nhau. Nhưng cấu trúc quan trọng nhất của lục lạp là hệ thống cột hình mạng lưới nằm trong chất nền. Hệ thống gồm các cột (grana)

được nối với nhau bởi các tấm gian cột (intergrana lamella) (hình 4.2) Số cột có thể thay đổi từ vài cột cho đến 50 cột tùy loại lục lạp và cột có đường kính khoảng 0,6μm. Cột là hệ thống túi dẹp xếp chồng lên nhau làm cho cột có cấu trúc tấm nên được gọi là cột hình tấm (grana lamella) hay là tilacoit. Túi dẹp có đường kính 0,6μm, chiều dày 20nm và được cấu tạo từ màng lipoprotein dày khoảng 7nm, giới hạn xoang tilacoid. Các cột thông với nhau nhờ các tấm gian cột cũng có cấu tạo màng lipoprotein. Màng của tilacoit có chứa các cấu trúc hạt hình nấm có kích thước 10 - 20nm là phức hệ ATP - sintetaza. Trong màng tilacoit chứa các phân tử clorophyl a, b và các carotinoit. Các phân tử clorophyl xếp trong màng có trật tự nhất định - phần ưa nước của clorophyl liên kết với protein đặc trưng trong màng, còn "đuôi" kỵ nước thì liên kết với photpholipit. Các phân tử clorophyl tập hợp thành từng phức hệ gồm khoảng 200 phân tử hoạt động như một dàn anten thu bắt photon ánh sáng được gọi là *phức hệ anten* (antena complex). Mỗi phức hệ anten hoạt động như một "cái phễu" dùng để tập trung năng lượng ánh sáng vào hai phân tử clorophyl a đặc biệt của phức hệ, gọi là *trung tâm phản ứng* (đối với hệ quang hợp I là clorophyl a P700, đối với hệ quang hợp II là clorophyl a P680). Trung tâm phản ứng liên kết với các chất nhận điện tử và chất cho điện tử trong dãy chuyền điện tử của hệ quang hợp.



Hình 4.2. *Cấu trúc của lục lạp*
A. Tế bào lá; B. Cấu trúc hiển vi của lục lạp.
1. Tế bào trung diệp của lá; 2. Lục lạp; 3. Màng ngoài; 4. Màng trong; 5. Chất nền; 6. Cột (grana); 7. Màng tilacoit; 8. Xoang tilacoit.

được nối với nhau bởi các tấm gian cột (intergrana lamella) (hình 4.2) Số cột có thể thay đổi từ vài cột cho đến 50 cột tùy loại lục lạp và cột có đường kính khoảng 0,6µm. Cột là hệ thống túi dẹp xếp chồng lên nhau làm cho cột có cấu trúc tấm nên được gọi là cột hình tấm (grana lamella) hay là tilacoit. Túi dẹp có đường kính 0,6µm, chiều dày 20nm và được cấu tạo từ màng lipoprotein dày khoảng 7nm, giới hạn xoang tilacoid. Các cột thông với nhau nhờ các tấm gian cột cũng có cấu tạo màng lipoprotein. Màng của tilacoit có chứa các cấu trúc hạt hình nấm có kích thước 10 - 20nm là phức hệ ATP - sintetaza. Trong màng tilacoit chứa các phân tử clorophyl a, b và các carotinoit. Các phân tử clorophyl xếp trong màng có trật tự nhất định - phần ưa nước của clorophyl liên kết với protein đặc trưng trong màng, còn "đuôi" kỵ nước thì liên kết với photpholipit. Các phân tử clorophyl tập hợp thành từng phức hệ gồm khoảng 200 phân tử hoạt động như một dàn anten thu bắt photon ánh sáng được gọi là *phức hệ anten* (antena complex). Mỗi phức hệ anten hoạt động như một "cái phễu" dùng để tập trung năng lượng ánh sáng vào hai phân tử clorophyl a đặc biệt của phức hệ, gọi là *trung tâm phản ứng* (đối với hệ quang hợp I là clorophyl a P700, đối với hệ quang hợp II là clorophyl a P680). Trung tâm phản ứng liên kết với các chất nhận điện tử và chất cho điện tử trong dãy chuyền điện tử của hệ quang hợp.



Hình 4.2. *Cấu trúc của lục lạp*
A. Tế bào lá; B. Cấu trúc hiển vi của lục lạp.
1. Tế bào trung diệp của lá; 2. Lục lạp; 3. Màng ngoài; 4. Màng trong; 5. Chất nền; 6. Cột (grana); 7. Màng tilacoit; 8. Xoang tilacoit.

Trong màng tilacoit chứa các nhân tố và enzim của dãy chuyền điện tử (plastokinon, các cytocrom, feredoxin...) và tổng hợp ATP (ATP - sintetaza) của hệ quang hợp I và II, còn các enzim chịu trách nhiệm tổng hợp glucozơ thì định khu trong chất nền của lục lạp. ADN và các loại ARN cũng như riboxom định khu trong chất nền của lục lạp.

Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng, hệ thống màng tilacoit của cột có nguồn gốc từ màng trong của lục lạp.

3.3. Chức năng của lục lạp

Lục lạp có chức năng quang hợp. Ánh sáng mặt trời ở dạng các quang tử (photon) được hấp phụ bởi clorophyl, các điện tử được giải phóng và được chuyền đi qua dãy chuyền điện tử và ATP được tổng hợp nhờ phức hệ ATP-sintetaza. Lục lạp sử dụng năng lượng ATP và hệ enzim trong cơ chất để tổng hợp cacbohydrat (xem phần chuyển hóa năng lượng).

3.4. Sự phát sinh của lục lạp

Cũng giống như ty thể, trong lục lạp có chứa ADN và ARN.

ADN của lục lạp là các phân tử trần có dạng vòng giống với ADN của vi khuẩn lam.

Trong lục lạp có đủ các loại ARN, riboxom, cho nên lục lạp có thể tự tổng hợp một số protein riêng cho mình.

Theo dõi quá trình phát sinh chủng loại, người ta quan sát thấy sự phức tạp hóa dần dần trong cấu trúc lục lạp. Ở vi khuẩn, cấu trúc dùng để hấp thụ và chuyển hóa năng lượng ánh sáng mặt trời chính là màng sinh chất có chứa sắc tố bao quanh tế bào. Ở vi khuẩn lam, hệ thống màng có chức năng quang hợp là màng tilacoit đã được tách khỏi màng bởi một lớp tế bào chất, trong màng tilacoit chứa clorophyl. Tảo lục đã có lục lạp phân hóa nhưng có cấu trúc đơn giản, nghĩa là chưa có hệ thống cột. Từ rêu, dương xỉ, lục lạp đã có dạng điển hình giống lục lạp thực vật bậc cao.

Qua các thế hệ tế bào, tính liên tục của lục lạp là do lục lạp có khả năng tự sinh sản bằng cách phân chia, và người ta cũng đã chứng minh rằng lục lạp được hình thành chỉ bằng cách phân chia từ lục lạp có trước. Khả năng tự phân chia của lục lạp là do lục lạp có hệ thống di truyền tự lập riêng (có ADN) và hệ tổng hợp protein tự lập (có chứa riboxom, các loại ARN). Riboxom của lục lạp giống riboxom

của Procaryota, có hằng số lắng 70S gồm 2 đơn vị nhỏ là 50S và 30S. Đơn vị nhỏ 50S chứa rARN 5S và 23S và 26 - 34 protein. Đơn vị nhỏ 30S chứa rARN 16S và 19 - 25 protein. ADN của lục lạp cũng có cấu tạo giống ADN của Procaryota (vi khuẩn và vi khuẩn lam) có cấu trúc vòng, không chứa histon, có chiều dài khoảng 150μm với hàm lượng 10^{-15}-10^{-16}g. ADN của lục lạp chứa thông tin mã hóa cho một số protein mà lục lạp tự tổng hợp trên riboxom của mình. Còn các protein khác của lục lạp do tế bào cung cấp. ADN lục lạp - là nhân tố di truyền tế bào chất. Người ta cho rằng, trong quá trình tiến hóa chủng loại, lục lạp được hình thành do kết quả của sự cộng sinh của một loài vi khuẩn lam trong tế bào.

3.5. Sắc lạp

Sắc lạp (chromoplast) có thành phần sinh hóa khác với lục lạp, lipit chiếm đến 58%, protein 22%. Nếu như trong lục lạp lipit chỉ chiếm 1/3 và protein chiếm 1/2 khối lượng chung, thì đối với sắc lạp lipit chiếm quá 1/2 và protein chỉ chiếm 1/5 khối lượng chung. Về axit nucleic thì trong sắc lạp người ta chỉ tìm thấy ARN.

Trong các sắc tố, β-carotin là thành phần sinh hoá quan trọng trong lục lạp, thì trong sắc lạp chúng biến thành epoxit, do đó hàm lượng β-carotin trong sắc lạp hầu như không có.

Thay thế cho β-carotin, trong sắc lạp có các carotinoit khác, ví dụ, trong củ cà rốt có α-carotin, trong quả cà chua cũng như quả của họ Cà *Solanaceae*-có sắc tố licopin. Về mùa thu, khi lá xanh hóa vàng thì clorophyl đã bị phá hủy và các chất carotinoit còn lại trong lạp thể và giữ ở dạng oxy hóa hoặc ở dạng các este phức tạp hòa tan trong dịch bào.

Sắc lạp có thể được hình thành từ lục lạp hoặc từ bạch lạp (ví dụ ở củ cà rốt). Theo dõi quá trình màu hóa của lá hay sự chín của quả, ta có thể thấy rõ sự hình thành sắc lạp từ lục lạp. Trong quá trình hình thành sắc lạp, clorophyl và tinh bột trong lục lạp dần dần biến mất, đồng thời sắc tố vàng tăng dần hàm lượng và hòa tan trong lipit ở dạng các thể cầu bé. Cấu trúc tấm của lục lạp bị phá hủy và chất nền của lục lạp cũng bị thoái hóa. Như vậy ta có thể xem sắc lạp là giai đoạn già cỗi và thoái hoá của lạp thể, tuy nhiên cũng không nên xem sắc lạp không đóng vai trò gì trong đời sống của cây. Màu của hoa và quả cũng có tác dụng lôi kéo côn trùng, chim và đó cũng là một phương thức thụ phấn và phát tán hạt.

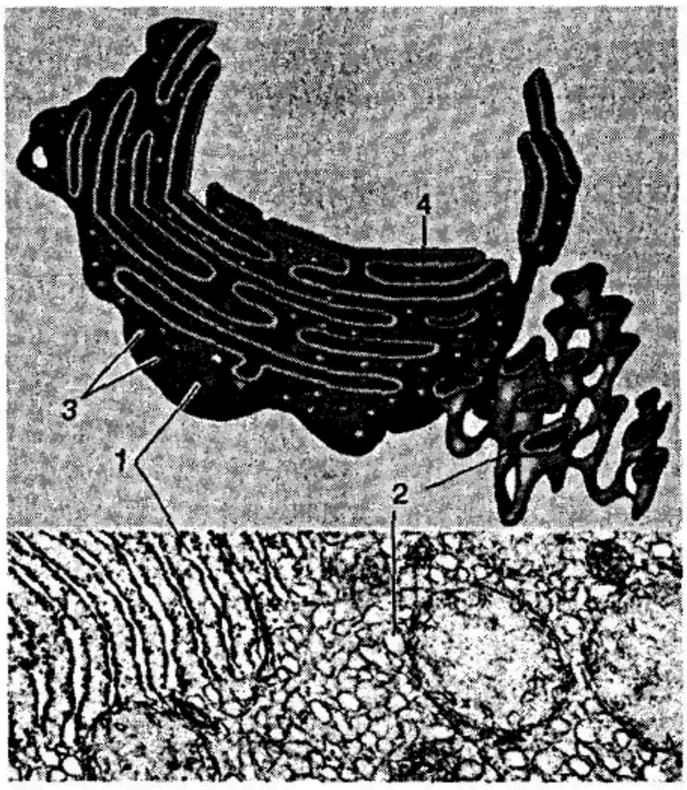
IV- MẠNG LƯỚI NỘI CHẤT

Mạng lưới nội chất (endoplasmic reticulum, *ergastoplasma*), là một cấu thành của tế bào chất mới được phát hiện vào khoảng những năm 50 thế kỷ XX với sự phát triển kỹ thuật hiển vi điện tử. Những nghiên cứu kỹ thuật hiển vi điện tử đã cho thấy rằng trong tế bào chất có cấu trúc mạng lưới: đó là hệ thống phức tạp các kênh, các không bào và bể chứa. Vì rằng trong tế bào của mô nuôi cấy, hệ thống cấu trúc lưới đó được quan sát thấy trong phần nội chất của tế bào nên người ta đã gọi chúng là "mạng lưới nội chất". Có nhiều nhà nghiên cứu dùng danh từ "ergastoplasma" để gọi cấu trúc mạng lưới đó. Ergastoplasma bắt màu thuốc nhuộm kiềm bởi có chứa mạng lưới nội chất hạt (hạt là riboxom chứa rARN).

4.1. Cấu trúc của mạng lưới nội chất

a) Cấu trúc hiển vi

Mạng lưới nội chất là hệ thống các kênh, các túi, các bể chứa phân bố trong tế bào chất và được giới hạn bởi màng lipoprotein. Các kênh, túi và bể chứa thông với nhau hình thành nên mạng lưới ba chiều phức tạp, phân bố khắp tế bào chất của tế bào (hình 4.3).



Hình 4.3. *Cấu trúc của mạng lưới nội chất*
1. Mạng lưới nội chất hạt; 2. Mạng lưới nội chất trơn; 3. Hạt riboxom; 4. Màng nhân.

Mạng lưới nội chất được tìm thấy ở hầu hết các tế bào động vật (trừ hồng cầu chín), ở nguyên sinh động vật (amip, thảo trùng) và ở các tế bào của tất cả thực vật. Vi khuẩn không có mạng lưới nội chất. Đặc tính cấu trúc và mức độ phát triển của mạng lưới nội chất thay đổi tùy loại tế bào, nhưng đối với mỗi loại tế bào chúng có cấu trúc điển hình.

Mạng lưới nội chất phát triển nhất ở các tế bào có mức độ trao

đổi protein cao như các tế bào tiết (tế bào tiết của tuyến tụy), tế bào gan v.v... Đối với các loại tế bào như tinh bào, bạch cầu, tế bào vỏ tuyến trên thận thì mạng lưới nội chất phát triển yếu. Sự phát triển của mạng lưới nội chất còn phụ thuộc vào mức độ phân hóa của tế bào. Ví dụ, trong các tế bào ít phân hóa, đang tích cực phân bào như tế bào nền của tuyến nhờn chẳng hạn thì chúng phát triển rất yếu, còn trong các tế bào đã phân hóa nằm ở vị trí trung tâm của tuyến nhờn thì mạng lưới nội chất lại rất phát triển. Trong quá trình phát triển phôi của động vật, thực vật và phôi người, ta cũng quan sát thấy sự thay đổi như vậy của mạng lưới nội chất.

Hình dạng và mức độ phát triển của mạng lưới nội chất còn có liên hệ với hoạt tính chức năng của tế bào. Ví dụ, tế bào tiết trong thời kỳ hoạt động tiết thì hình dạng và mật độ của mạng lưới cũng thay đổi rất nhiều. Trong các tương bào ở thời kỳ tổng hợp kháng thể, mạng lưới nội chất rất phát triển. Người ta phân biệt 2 dạng mạng lưới nội chất: *mạng lưới có hạt* và *mạng lưới trơn*. Chúng thông thương với nhau và đều có cấu tạo màng lipoprotein dày 6nm. Chúng chỉ khác nhau ở hình dạng các xoang và đặc biệt là ở màng của mạng lưới có hạt có đính các riboxom, còn màng của mạng lưới trơn thì không có riboxom (hình 4.3).

b) Mạng lưới có hạt gồm các túi dẹp xếp song song thành nhóm. Mặt ngoài màng có đính các riboxom. Riboxom được đính vào màng nhờ protein riboforin. Mạng lưới có hạt rất phát triển ở các tế bào tích cực tổng hợp và chế tiết protein. Protein được tổng hợp trên riboxom, được đưa vào lòng túi và được mạng lưới chuyên chở đến phức hệ Golgi và từ đây được đóng gói và tiết ra ngoài. Trong tế bào gan, mạng lưới có hạt tập trung tại một vùng tạo nên thể Berg, còn trong tế bào thần kinh mạng lưới có hạt tập trung thành thể Nissl. Trong tương bào (plasmocyte) mạng lưới có hạt rất phát triển và phân bố khắp khối tế bào chất.

c) Mạng lưới trơn *(Mạng lưới nội chất không có hạt)* gồm các kênh hẹp nối với nhau và được phân bố khắp tế bào chất. Trong nhiều trường hợp, mạng lưới trơn thông với màng sinh chất, màng nhân. Màng của mạng lưới trơn không có riboxom.

4.2. Thành phần hóa học của mạng lưới nội chất

Với kỹ thuật ly tâm siêu tốc tách phần người ta tách được mạng lưới nội chất dưới dạng các tiểu phần ở dạng túi nhỏ (được gọi là vi

thể - microsome) với riboxom hoặc không có riboxom. Phân tích sinh hóa cho ta thấy màng của mạng lưới nội chất có chứa các protein cấu trúc và các lipit (với hàm lượng từ 30-50%); các enzim cần thiết cho sự tổng hợp protein, cho sự trao đổi các lipit, cho sự khử độc. Vì mạng lưới trơn và mạng lưới có hạt thông thương với nhau nên rất khó phân biệt, nhưng chúng đều là màng lipoprotein theo mô hình khảm động như màng sinh chất. Tuy nhiên chúng có đặc điểm riêng như: lớp kép photpholipit chưa no thì mỏng hơn, các enzim gluco-6-photphataza và nucleozit-photphataza đều là những protein định khu ở mặt lòng túi, còn cytochrom P450 là protein xuyên màng, cytochrom B5 và 2 reductaza (cytochrom P450-reductaza và cytochrom B5-reductaza) thì định khu ở mặt tiếp xúc với tế bào chất.

Màng của mạng lưới nội chất cũng có tính bất đối xứng: Phần gluxit của các glicolipit và glicoprotein đều hướng vào lòng túi. Về thành phần sinh hóa, người ta có thể quan sát được sự sai khác giữa 2 dạng mạng lưới.

– Mạng lưới trơn chứa nhiều photpholipit hơn mạng lưới có hạt.

– Mạng lưới có hạt có tỷ lệ photpholipit/colesterol là 1,5 còn mạng lưới trơn là 4, vì vậy màng mạng lưới trơn linh hoạt hơn.

– Enzim gluco - 6 - photphataza có trong mạng lưới có hạt, còn enzim 5'-nucleotidaza có trong mạng lưới trơn.

4.3. Chức năng của mạng lưới nội chất

Mạng lưới nội chất là một cấu trúc phổ biến của tế bào nhân chuẩn và chúng phát triển mạnh ở các loại tế bào đang phân hóa, ở tế bào đang tích cực tổng hợp chất, vì vậy mà người ta cho rằng chúng đóng vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất của tế bào.

a) Vai trò giao thông nội bào: Trước hết ta có thể xem mạng lưới nội chất như một hệ thống giao thông của tế bào, chúng bảo đảm sự vận chuyển các chất từ môi trường vào tế bào chất, và cũng là đường giao thông giữa các cấu trúc nội bào. Người ta đã giả thiết rằng, trong khi thực hiện vai trò vận chuyển thì mạng lưới nội chất chuyển động tích cực để đuổi, thu các chất khác nhau vào trong các xoang, các bể chứa, và chắc chắn là khi mạng lưới thu nhận các chất đó không phải thụ động, mà phải xem mạng lưới như một hệ thống giao thông động. Các chất đi qua màng của mạng lưới vào lòng túi hoặc ra tế bào chất bằng hình thức hoạt tải, có chọn lọc. Mạng lưới

không chỉ đóng vai trò vận chuyển chất mà còn có vai trò tập trung các chất: các chất khác nhau từ tế bào chất hoặc từ các bào quan được tập trung vào các xoang túi bể chứa của mạng lưới và từ đó sẽ được chuyển đi đến các phần khác nhau của tế bào hoặc thải ra ngoài.

b) Vai trò tổng hợp chất: Vai trò quan trọng thứ hai của mạng lưới nội chất là sự tham gia của chúng trong quá trình sinh tổng hợp các chất. Mạng lưới nội chất có hạt có vai trò trong sự tổng hợp các protein và các enzim. Trong các tế bào tổng hợp các sản phẩm protein khác nhau (các chất tiết protein và chất tiền enzim) mạng lưới nội chất rất phát triển, trong lúc đó đối với các tế bào tuyến tiết hoạt động tích cực nhưng sản xuất chất tiết không thuộc protein (ví dụ các tế bào tiết của tuyến ở dạ dày tiết các chlorit, tế bào ưa sắc của tuyến trên thận tiết adrenalin; tế bào lớp vỏ tuyến trên thận tiết corticosteroid) thì mạng lưới nội chất có hạt lại phát triển yếu.

Các axit amin được chuyên chở đến các riboxom của mạng lưới, ở đây các protein hoặc chất sinh enzim được tổng hợp, được tích lại trong các xoang túi, bể chứa của mạng lưới nội chất và sau đó theo lòng kênh mạng lưới đi vào thể Golgi, ở đây chúng được đóng gói và hình thành các hạt chất tiền enzim. Trong tế bào noãn quản của gà mái, chất tiết albumin cũng được tìm thấy trong mạng lưới nội chất có hạt. Trong mạng lưới nội chất của các tế bào nang tuyến giáp trạng trong thời gian hoạt động tiết, người ta đã tìm thấy các chất tiết protein. Trong các sợi bào của người và sụn bàp của gà con, trong thời kỳ các sợi collagen đang hình thành, người ta đã quan sát thấy trong mạng lưới nội chất có hạt có tập trung nhiều chất protocollagen. Về sau, các chất này tập hợp thành các sợi mảnh tập trung gần màng tế bào và biến thành các sợi collagen. Trong các tương bào và limpho bào lớn của hạch limpho và tỳ, trong thời kỳ sản xuất kháng thể thì mạng lưới nội chất có hạt phát triển mạnh có mang nhiều riboxom, và trong các xoang, lòng túi của mạng lưới có tích nhiều hạt bé mà với phương pháp huỳnh quang miễn dịch đã xác định được rằng các chất đó là kháng thể. Trong mạng lưới nội chất có hạt của các lông tiết ở lá cây ăn sâu bọ *Pinguicula,* người ta đã quan sát thấy các chất tiết protein. Như vậy ta có thể xem mạng lưới nội chất có hạt là một cấu trúc nội bào tham gia vào quá trình sinh tổng hợp các loại protein khác nhau, đặc biệt là các chất tiết protein và enzim.

Đối với mạng lưới nội chất trơn thì chúng có vai trò tham gia vào các quá trình tổng hợp, tập trung và vận chuyển các chất khác, đặc biệt là các lipit phức tạp (như photpholipit, lipoprotein), các steroid và glicogen. Nếu như loại mạng lưới nội chất có hạt đặc biệt được phát triển trong các tế bào chịu trách nhiệm sản xuất các chế phẩm protein, thì loại mạng lưới nội chất trơn lại phát triển mạnh trong các tế bào tổng hợp các loại lipit (tế bào tuyến nhờn của da, vỏ tuyến trên thận, tế bào kẽ của tinh hoàn). Trong các tế bào mô mỡ của chuột, quá trình hình thành lipit được xảy ra trong các bể chứa của mạng lưới nội chất trơn. Đối với các tế bào biểu mô ruột, mạng lưới nội chất trơn không chỉ dùng để vận chuyển chất mỡ mà còn tham gia sinh tổng hợp chất mỡ từ các triglixerit. Có nhiều giả thiết cho rằng, mạng lưới nội chất trơn tham gia vào sự tổng hợp và phân giải glicogen. Những thí nghiệm trên tế bào gan cho thấy rằng, quá trình tích lũy glicogen và phân giải glicogen có liên quan với hoạt động của mạng lưới nội chất. Sự tích lũy glicogen trong mạng lưới nội chất cũng được quan sát thấy trong cơ xương của chuột và trong tế bào nơron của ếch. Ngoài ra mạng lưới nội chất trơn còn có vai trò khử độc, chúng tập trung và chuyển hóa các độc tố xâm nhập vào tế bào.

4.4. Nguồn gốc và phát triển của mạng lưới nội chất

Về nguồn gốc và quá trình hình thành mạng lưới nội chất trong tế bào thì nhiều nhà tế bào học cho rằng, mạng lưới là một loại cấu trúc rất biến động và có thể được hình thành từ các cấu trúc khác có nguồn gốc màng. Nguồn gốc của chúng có thể là màng sinh chất: các phần lõm vào tạo thành các uống bào có thể dính liền với mạng lưới nội chất và do đó làm cho chúng phát triển thêm, hoặc có khi mạng lưới di chuyển về phía màng sinh chất và nối liền với màng sinh chất. Màng mạng lưới nội chất có thể có nguồn gốc từ màng nhân. Theo nhiều dẫn liệu thì trong nội nhũ đang phát triển của hạt lúa mì, mạng lưới nội chất được phát triển từ màng nhân. Màng nhân lồi ra hình thành các túi, từ các túi này sẽ hình thành nên bể chứa của mạng lưới. Trong thời kỳ phân bào nguyên nhiễm, mạng lưới nội chất có thể tham gia tạo thành màng nhân của các tế bào con. Theo nhiều dẫn liệu thì mạng lưới nội chất có thể được phát triển bằng cách tăng cường và nảy chồi của các bể chứa và kênh có sẵn trong tế bào.

V- RIBOXOM (RIBOSOME)

5.1. Cấu trúc hiển vi của riboxom

Riboxom (còn gọi là hạt Palat, hạt ribonucleoproteit) là một bào quan tuy kích thước rất bé và có cấu trúc không phức tạp nhưng có vai trò vô cùng quan trọng đối với đời sống của tế bào. Chúng là nơi thực hiện sự sinh tổng hợp protein trong tế bào. Riboxom là những hạt rất bé dạng hình cầu có kích thước vào khoảng 20 - 35nm. Trong tế bào chất, riboxom có thể được đính ở mặt ngoài của mạng lưới nội chất có hạt. Các riboxom cũng có thể đính ở mặt ngoài của màng nhân. Ngoài ra các riboxom có thể không liên hệ với màng lưới nội chất, mà nằm tự do trong tế bào chất. Trong các tế bào có loại mạng lưới nội chất có hạt phát triển thì riboxom phần lớn là có liên hệ với mạng lưới, còn trong tế bào mà loại mạng lưới có hạt phát triển yếu (tế bào nền của biểu bì, tương bào non của hạch limpho và của tỳ; noãn bào của người v.v...) thì đa số các riboxom nằm tự do trong tế bào chất. Nhiều dẫn liệu đã chứng minh rằng, trong quá trình cá thể phát sinh thì mạng lưới nội chất và riboxom có nguồn gốc độc lập. Trong các tế bào ngoại tiết của tuyến tụy chuột trong quá trình phát triển phôi thì các riboxom tự do xuất hiện đầu tiên, và về sau ở các giai đoạn chậm hơn mới xuất hiện hệ thống mạng lưới nội chất, sau đó các riboxom mới có liên hệ với mạng lưới, bằng cách gắn với màng mạng lưới nhờ riboforin. Trong tế bào gan của chuột và tế bào nơron của gà con, số lượng các riboxom tự do giảm đi theo quá trình phát triển. Chính nhờ sự liên hệ của riboxom với mạng lưới nội chất nên riboxom đã thể hiện vai trò tích cực của mình trong quá trình sinh tổng hợp protein nhiều hơn so với riboxom tự do, và đặc biệt là tổng hợp các protein và các enzim để tiết ra khỏi tế bào. Riboxom còn tồn tại trong ty thể và lục lạp, chúng thường được chứa trong chất nền ty thể và lục lạp. Trong tế bào vi khuẩn, riboxom phân tán tự do trong tế bào chất. Số lượng riboxom trong tế bào có thể thay đổi tuỳ trạng thái sinh lý, bình thường tế bào vi khuẩn có từ 10.000 - 100.000 riboxom, còn trong tế bào nhân chuẩn số lượng riboxom có thể đạt tới hàng triệu hoặc nhiều hơn.

5.2. Thành phần hóa học cấu trúc phân tử của riboxom

Về thành phần hóa học của riboxom thì dù là của vi khuẩn, của tế bào thực vật hay động vật đều có thành phần hóa học, khối lượng

phân tử và hằng số lắng gần giống nhau (bảng 4.3) Riboxom chứa protein và axit ribonucleic (rARN) với hàm lượng gần bằng nhau.

ARN của riboxom (rARN) chiếm khoảng 80-90% tổng số ARN của tế bào. Riboxom chứa một số phân tử ARN ít nhưng có khối lượng phân tử lớn. So sánh với ARN thông tin (mARN) thì rARN bền vững hơn nhiều và ít được đổi mới. Protein của riboxom ở các tế bào khác nhau có thành phần axit amin giống nhau, có đặc tính kiềm và có khối lượng phân tử thấp. Protein và rARN liên kết với nhau để hình thành riboxom là nhờ mối liên kết hydro và ion Mg^{2+}. Tuy riboxom có cấu trúc đơn giản và tương đối đồng nhất nhưng chúng cũng được cấu thành từ hai đơn vị nhỏ (hạt) (hình 4.4). Riboxom có thể bị phân thành đơn vị nhỏ khi trong môi trường nồng độ các cation Mg, Ca, Co, Mn bị hạ thấp, và khi trong môi trường nồng độ các cation đó lại được tăng cao thì các đơn vị nhỏ lại liên kết lại với nhau để hình thành nên riboxom như lúc đầu. Riboxom của các tế bào khác nhau gồm hai đơn vị nhỏ có kích thước không giống nhau (bảng 4.3).

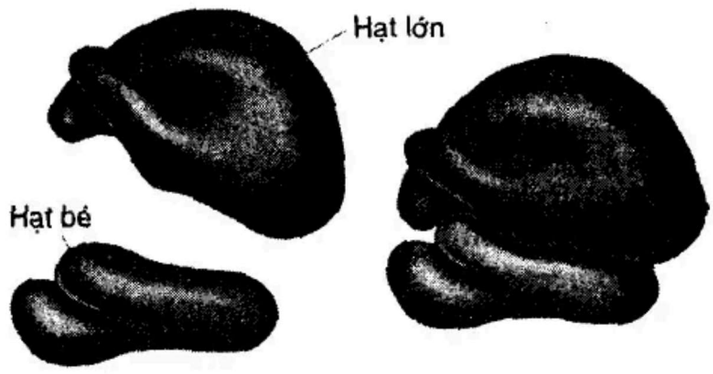
Bảng 4.3. Các đơn vị nhỏ của riboxom ở các loại tế bào khác nhau

Tế bào	Hằng số lắng (theo đơn vị Svedberg - S)	Hằng số lắng (theo đơn vị Svedberg - S)
	Riboxom	Các đơn vị nhỏ
Mầm cây đậu	80S	60S và 40S
Nấm men	80S	60S và 40S
Hồng cầu lưới thỏ	80S	60S và 40S
Escherichia coli	70S	50S và 30S

Như vậy qua bảng 4.3 ta thấy có sự sai khác giữa riboxom của tế bào vi khuẩn (*E. coli*) với các tế bào nhân chuẩn.

Trên riboxom có 3 vùng liên kết với ARN:

– Một vùng liên kết với mARN.



Hình 4.4. Cấu trúc của riboxom

– Một vùng gọi là vùng liên kết peptil - tARN (vùng P) dùng để cố định tARN khi đang lắp ráp các axit amin vào mạch polipeptit.

– Một vùng gọi là vùng liên kết aminoacyl - tARN (vùng A) dùng để cố định tARN đang mang axit amin chuyển vào riboxom.

Riboxom của Procaryota cũng như của *E. coli* có hằng số lắng 70S gồm có đơn vị nhỏ 50S có hình ba góc hoặc hình thang dạng ghế bành, có chứa 2 dạng rARN là 5S và 23S và 31 protein; đơn vị nhỏ 30S có dạng mũ có phần lồi chứa vùng liên kết với mARN, phù hợp với phần lõm của đơn vị nhỏ 50S. Đơn vị nhỏ 30S có chứa rARN 16S và 21 protein. Các rARN có vai trò trong sự liên kết 2 đơn vị nhỏ với nhau cũng như liên kết với các ARN khác. Protein riboxom có vai trò tạo nên các vùng liên kết của riboxom (vùng A, vùng P, vùng liên kết với mARN) đồng thời tham gia vào quá trình dịch mã. Riboxom của Eucaryota có kích thước lớn hơn, thành phần rARN và protein phức tạp hơn và có hằng số lắng 80S. Chúng gồm 2 đơn vị nhỏ 60S và 40S. Đơn vị nhỏ 60S có đến 3 dạng rARN là: rARN 28S, rARN 5,8S và rARN 5S, và 50 protein. Đơn vị nhỏ 40S chứa rARN 18S và 35 protein.

5.3. Chức năng và nguồn gốc của riboxom

Trong tế bào sống, riboxom đóng vai trò là phân xưởng tổng hợp protein. Vai trò của riboxom thể hiện ở chỗ: chính trên riboxom, các axit amin được tập hợp và được lắp ráp đúng chỗ tạo thành mạch polipeptit, theo đúng thông tin di truyền ở trong mạch mARN. Rất nhiều thí nghiệm đã thực hiện thành công sự tổng hợp các protein trên các riboxom đã bị cô lập khỏi tế bào.

Một trong những đặc tính của riboxom là tính ít đặc trưng: trên riboxom có thể được đính loại mARN lạ và protein được tổng hợp là loại protein do mã chứa trong mARN đó. Ví dụ, khi tế bào vi khuẩn bị virut ký sinh thì chính trên riboxom của vi khuẩn đã tổng hợp nên protein của virut. Người ta đã dùng riboxom lấy từ hồng cầu lưới của thỏ để tổng hợp nên hemoglobin của cừu.

Đồng thời nhiều dẫn liệu đã chứng minh rằng, riboxom tham gia vào quá trình tổng hợp protein không phải như một hợp chất hóa học, mà như một cấu trúc toàn vẹn và đặc trưng. Trong quá trình tổng hợp protein không phải tất cả các riboxom đều hoạt động mà chỉ có các riboxom, "hoạt tính" hoạt động, chúng khác các riboxom khác ở chỗ: sau khi nồng độ Mg bị giảm xuống chúng không bị phân giải

thành các đơn vị nhỏ. Trong khi tổng hợp protein không phải tất cả các riboxom "hoạt tính" đều tham gia cùng một lúc mà chỉ có khoảng 10% tham gia. Tính chất hoạt động một cách liên hoàn "hoạt động - nghỉ" của riboxom đã bảo đảm cho chúng hoạt động trong thời gian lâu dài và khả năng hoạt động lớn. Các riboxom hoạt động không phải đơn độc mà phối hợp lại thành một liên hợp poliriboxom hay là "polixom" (polisome). Các polixom tự do trong tế bào chất tổng hợp các protein nội bào, còn polixom trên mạng lưới nội chất tổng hợp các protein là chất tiết ra ngoài. Trong sự tổng hợp protein, riboxom không đóng vai trò thụ động như là nơi chứa sợi mARN mà có vai trò tích cực, và trong quá trình tổng hợp protein bằng hệ thống polixom, các riboxom riêng biệt chuyển vận theo sợi mARN, "đọc" thông tin chứa trong đó và hướng các anticodon của các tARN nhận đúng các codon tương ứng trong mARN, do đó lắp ráp các axit amin vào đúng trình tự sắp xếp của mạch polipeptit đang được tạo thành, và như vậy mạch polipeptit sẽ được tạo thành theo kiểu lắp ráp dây chuyền. Sự tổng hợp protein trên riboxom được gọi là sự dịch mã (translation).

Các ARN - riboxom (rARN) được tổng hợp trong nhân tế bào trên khuôn ADN, sau đó được tích lũy trong hạch nhân, ở đây rARN được liên kết với protein riboxom để hình thành các tiền riboxom, nhờ liên kết hydro và ion Mg^{2+}. Tiền riboxom sẽ đi ra tế bào chất biến thành riboxom.

VI- PHỨC HỆ GOLGI (GOLGI COMPLEX)

Phức hệ golgi là bào quan được Camilo Golgi mô tả lần đầu tiên vào năm 1898 trong tế bào Purkinje của tiểu não và được tác giả gọi là "hệ mạng lưới nội bào" (apparato reticulare interno). Về sau này bào quan đó mang nhiều tên gọi khác nhau "thể golgi", "hệ golgi", "vùng golgi", "không bào" "dictiosome" v.v... Nhưng chỉ có thuật ngữ "phức hệ golgi" do Dalton, Felix (1954) đưa ra là phản ánh đúng quan niệm hiện nay về tổ chức siêu vi của bào quan và được dùng phổ biến nhất, nhưng nhiều tác giả vẫn gọi chúng là bộ máy golgi (Golgi apparatus).

6.1. Cấu trúc hiển vi của phức hệ golgi

a) Hình thái chung: Cấu trúc của phức hệ golgi rất thay đổi. Đầu tiên chúng được mô tả ở dạng mạng lưới phức tạp xếp xung

quanh nhân tế bào, và người ta cho rằng dạng mạng lưới là dạng cấu tạo độc nhất và điển hình nhất. Nhưng về sau nhiều nhà nghiên cứu đã quan sát thấy thể golgi có thể có dạng hình cầu, dạng hình liềm, dạng hình que đứng riêng lẻ (nên có tên là thể golgi hoặc dictiosome).

Phức hệ golgi ở dạng phân tán đôi khi gặp ở tế bào của bọn có xương sống, nhưng thường gặp là ở tế bào bọn không xương sống.

Hình dạng phức hệ golgi không những khác nhau ở các loại tế bào khác nhau, mà còn thay đổi tuỳ theo hoạt tính chức năng của tế bào. Phức hệ golgi có cấu trúc rất đa dạng và có đặc tính dễ thay đổi hình dạng. Dạng phân tán có thể phát triển thành dạng mạng lưới và trái lại dạng mạng lưới có thể thoái hoá thành phân tán.

b) Cấu trúc siêu vi: Phức hệ golgi là bào quan có cấu tạo màng lipoprotein điển hình giới hạn các xoang, khe, bể chứa thuộc 3 dạng sau đây (hình 4.5).

– Hệ thống các bể chứa dẹp được giới hạn bởi các màng trơn. Các bể chứa dẹp này thường xếp thành bó 5 - 8 bể kề sát nhau. Số lượng bể chứa, độ dẹp và khoảng cách giữa các bể thay đổi tùy loại tế bào. Thường thì các bể nằm cách nhau không quá 15nm, lòng bể chứa có chiều rộng 9-15nm, màng giới hạn bể chứa có chiều dày 6-8nm.

– Những không bào bé nằm ở phần cuối các bể chứa, chúng có kích thước không quá 30-50nm. Chính các loại không bào này ở độ phóng đại bé có dạng các hạt.

– Những không bào lớn cũng có màng bao bọc như bể chứa, chúng có kích thước khá lớn (0,2 - 0,3μm) và thường nằm cạnh các bó bể chứa hoặc nằm xen kẽ giữa các bể trong bó.

Các cấu thành của phức hệ golgi đều có liên hệ với nhau và có nguồn gốc liên quan với nhau. Các không bào bé có thể được tạo thành do sự tách các đầu cuối của bể chứa, các không bào lớn có thể được tạo thành do sự phình rộng các bể chứa, và đến lượt chúng khi dẹp lại chúng lại biến thành bể chứa.

Mức độ phát triển các cấu thành của phức hệ golgi ở các loại tế bào khác nhau thể hiện khác nhau. Phức hệ golgi ở tế bào động vật không xương sống cũng có diện tổ chức giống với phức hệ golgi của tế bào động vật có xương sống, nhưng ở bọn không xương sống thì các bể chứa phát triển hơn, số lượng các không bào bé nhiều hơn, còn loại không bào lớn thì kém phát triển.

Phức hệ golgi của tế bào thực vật được cấu tạo gồm một số ít các bể chứa dẹp, ngắn và một số ít các không bào bé.

Trong các tế bào khác nhau của bọn động vật có xương sống thì mức độ phát triển các cấu thành của phức hệ golgi cũng khá khác nhau. Ví dụ, trong tế bào thận, tế bào nơron, tế bào gan, và tế bào lutein thì hệ thống bể chứa khá phát triển, còn hệ thống không bào thì kém phát triển hơn. Còn trong tinh tử, tinh trùng và noãn bào của các động vật có vú khác nhau thì hệ thống các bể chứa phát triển rất yếu hoặc thiếu hẳn, mà phức hệ golgi chỉ gồm các không bào bé và không bào lớn. Trong các tế bào biểu mô ruột, tế bào tuyến sữa, bạch cầu và tương bào, các cấu thành không bào của phức hệ golgi cũng rất phát triển. Những thay đổi nói trên chắc chắn là có liên quan tới vai trò chức năng của từng cấu thành riêng biệt của phức hệ golgi. Thật vậy, trong khi hình thành các chất tiết, các hạt noãn hoàng đều kéo theo sự tăng cường kích thước và số lượng các không bào bé trong phức hệ golgi.

Mức độ phát triển các cấu thành của phức hệ golgi cũng thay đổi trong quá trình phát triển cá thể. Theo dẫn liệu của một số tác giả thì trong tế bào ngoại tiết của tuyến tụy, của phôi chuột cống ở giai đoạn 8 - 10mm chiều dài thân, phức hệ golgi chỉ là hệ thống các bể chứa còn phát triển yếu (có lòng túi rộng 5nm và màng dày 6nm), chưa có các không bào, và về sau ở các đầu cuối bể chứa mới tách thành các không bào bé (có kích thước 20-40nm), và dần dần số lượng chúng càng nhiều thêm. Ở giai đoạn phát triển muộn hơn của phôi, các bể chứa phình rộng ra hình thành các không bào lớn, và đồng thời các hạt chất tiết cũng bắt đầu được tạo thành. Nói chung, phức hệ golgi phát triển yếu ở các tế bào chưa phân hóa, kém hoạt động, cũng như ở các tế bào phôi và tế bào mô nuôi cấy. Trong quá trình hoạt động sinh lý, phức hệ golgi đã chịu sự thay đổi trong cấu thành của mình.

Trong tế bào, phức hệ golgi có thể định khu ở cạnh nhân, cạnh trung thể hoặc ở gần không bào co rút (như ở *Paramecium caudatum*). Thường thì phức hệ golgi nằm phía trên nhân (tế bào biểu mô phân cực), đôi khi có thể nằm ở phần nền tế bào. Tuy nhiên sự định khu của phức hệ có thể thay đổi tùy theo hoạt tính chức năng của tế bào.

6.2. Thành phần hóa học

Vì lẽ rằng phức hệ golgi có cấu thành phức tạp rất khó xác định, khó làm xuất hiện được chúng và tách chúng khi ly tâm phân đoạn

để nghiên cứu hóa tế bào, cho nên sự hiểu biết về thành phần sinh hóa của phức hệ golgi rất bị hạn chế và chưa đầy đủ. Những dẫn liệu sinh hóa và hóa tế bào đã cho thấy rằng, trong thành phần của phức hệ golgi có chứa photpholipit và protein với hàm lượng bằng nhau. Trong phức hệ golgi có thể chứa các enzim như photphataza kiềm, photphataza axit, nucleozitdiphotphataza, adenozintriphotphataza, inozindiphotphataza và inozintriphotphataza, glicozintransferaza, sulfotransferaza v.v... Trong phức hệ golgi còn tìm thấy các polisaccarit như sunfoxialomuxin và mucopolisaccarit.

6.3. Chức năng của phức hệ golgi

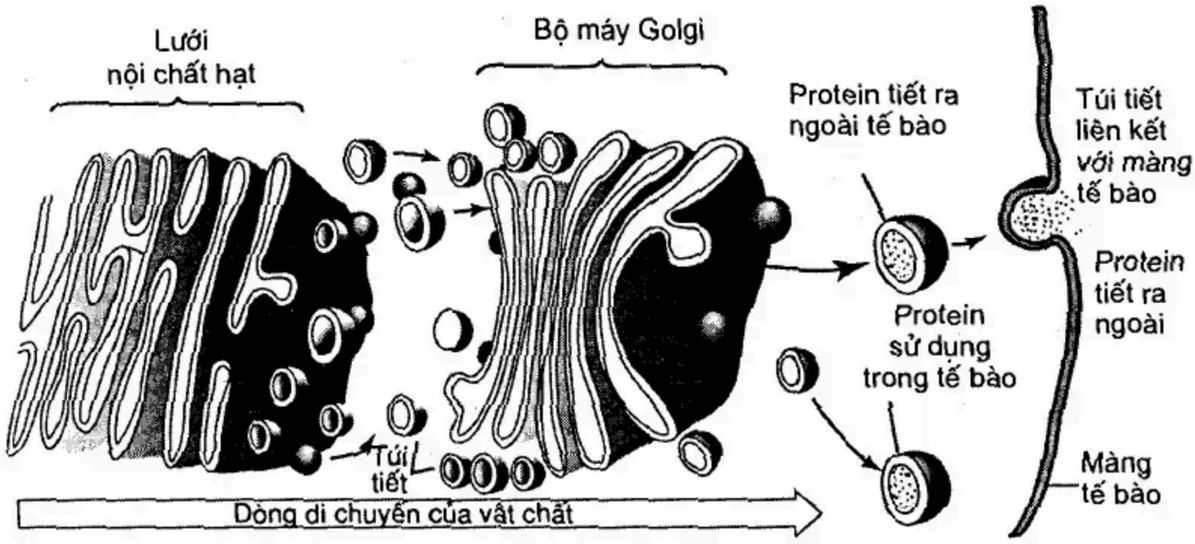
Rất nhiều công trình nghiên cứu trước kia đã chứng minh rằng, vai trò các phức hệ golgi có liên quan tới quá trình tiết của tế bào, nhưng đồng thời cũng có giả thiết cho rằng tham gia vào quá trình tiết ngoài phức hệ golgi ra, còn có rất nhiều bào quan khác, và sự tạo thành chất tiết chỉ thực hiện được khi có sự phối hợp giữa phức hệ golgi với tất cả các phần của tế bào. Tuy nhiên vấn đề đó chỉ được hiểu rõ khi các nhà tế bào học đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại như hiển vi điện tử, nguyên tử đánh dấu, ly tâm chiết phần v.v... Những dẫn liệu hiện đại cho phép các nhà nghiên cứu đưa ra quan niệm về dây chuyền sản xuất nội bào, và phức hệ golgi tham gia với tư cách là một khâu trong dây chuyền đó. Trong dây chuyền sản xuất nội bào, các chất tiết có thể trải qua các giai đoạn (khâu) nối tiếp nhau:

– Tổng hợp phân tử protein trên riboxom của mạng lưới nội chất có hạt.

– Sự vận chuyển protein theo mạng lưới nội chất và sự hình thành các hạt trong bể chứa của mạng lưới.

– Sự di chuyển các hạt trong bể chứa của mạng lưới vào phức hệ golgi.

Trong phức hệ golgi, các hạt này được xử lý, thành phần của chúng được phức hệ golgi hấp thụ và chế biến thành các hạt chất tiết sơ cấp. Như vậy, phức hệ golgi tham gia vào dây chuyền sản xuất nội bào như là phân xưởng tập trung và "đóng gói", qua đó các vật liệu tiết được chế biến thành hạt chất tiết (hình 4.5).



Hình 4.5. *Phức hệ golgi và dây chuyền sản xuất nội bào*

Các dẫn liệu nghiên cứu trên các loại tế bào tiết khác nhau như tế bào tuyến yên, tế bào biểu mô thực quản và dạ dày, tế bào cà rốt trong nuôi cấy, tế bào gan v.v... đã chứng minh vai trò tập trung và đóng gói của phức hệ golgi đối với sản phẩm tiết là protein. Sản phẩm được tập trung và đóng gói trong phức hệ golgi không chỉ là chất tiết thuộc loại protein, mà có thể là các hạt noãn hoàng, các hoocmon thuộc loại steroid, các hoocmon insulin và glucagon. Hiện nay có rất nhiều dẫn liệu đề cập đến vai trò của phức hệ golgi không chỉ bó hẹp trong khâu tập trung và đóng gói mà còn tham gia vào sự tổng hợp các polisaccarit và các glicoprotein. Áp dụng phương pháp hiển vi điện tử hóa tế bào, người ta đã quan sát được sự định khu của các glicoprotein trong phức hệ golgi. Khi dùng phương pháp nguyên tử đánh dấu (dùng H^3-glucozơ), người ta cũng đã chứng minh rằng, trong các tế bào tiết các chất dịch nhày (tế bào tuyến dưới lưỡi, dưới hàm, tuyến Brune, tuyến khí quản, tế bào bôcan của chuột) cũng như trong sụn bào khí quản, sự tổng hợp mucopolisaccarit xảy ra trong phức hệ golgi. Nghiên cứu trên tế bào gan cũng thấy rõ sự tổng hợp glicoprotein có liên quan tới phức hệ golgi.

Không chỉ đối với tế bào động vật, mà cả ở tế bào thực vật phức hệ golgi cũng tham gia tổng hợp các polisaccarit. Các công trình nghiên cứu trên tế bào tảo *Elodea canadensis* và *Politrichum communae* ở giai đoạn đang phân hóa, nghĩa là ở giai đoạn tích cực

tạo vách tế bào, đã nhận thấy là: trong phức hệ golgi tập trung phần lớn polisaccarit. Khi dùng H^3-glucozơ để nghiên cứu tế bào bao rễ của lúa mì, người ta đã chứng minh rằng, đầu tiên chất đánh dấu có trong phức hệ golgi và sau đó có trong vách tế bào, và khi dùng phương pháp sinh hóa để nghiên cứu vách tế bào đã thấy rõ là chất đánh dấu có trong thành phần của polisaccarit.

Như vậy các dẫn liệu về hình thái sinh hóa, tế bào cũng như hiển vi điện tử và nguyên tử đánh dấu đã chứng minh vai trò của phức hệ golgi tham gia vào quá trình tổng hợp polisaccarit và glicoprotein.

Tóm lại, trong dây chuyền sản xuất nội bào, phức hệ golgi tham gia 3 khâu chủ yếu sau đây:

– Phức hệ golgi tham gia khâu tập trung đóng gói (hình thành) các sản phẩm tiết. Các sản phẩm tiết protein được tổng hợp trên riboxom của mạng lưới nội chất có hạt ở dạng proprotein được chuyển đến phức hệ, ở đây proprotein được xử lý thành protein (ví dụ proinsulin thành insulin).

– Phân tử glicoprotein cũng được sản xuất theo lối dây chuyền như thế. Cấu thành protein được tổng hợp trên riboxom của mạng lưới nội chất có hạt và được chuyển đến phức hệ golgi. Cấu thành gluxit được tổng hợp trong mạng lưới nội sinh chất và chuyển đến phức hệ golgi - ở đây phân tử glicoprotein được hình thành và đóng gói.

– Trong phức hệ golgi, các polisaccarit được tổng hợp, tham gia vào từng khâu như trên được chứng minh khá rõ ràng khi nghiên cứu quá trình tổng hợp polisaccarit của chất cơ bản, và protein collagen của sụn bào và cốt bào. Khi dùng H^3-prolin để đánh dấu cho collagen, ngay những phút đầu người ta đã quan sát thấy chất đánh dấu trên riboxom và trong mạng lưới nội chất có hạt, trong lúc đó ở phức hệ golgi không có gì. Nhưng khi dùng H^3-glucozơ để đánh dấu cho polisaccarit thì chất đánh dấu được quan sát thấy trong phức hệ golgi, còn trong mạng lưới nội chất lại không có gì. Điều đó chứng tỏ rằng, khi sản xuất sản phẩm protein thì phân xưởng sản xuất là riboxom, còn phức hệ golgi chỉ là nơi đóng gói. Còn khi sản xuất polisaccarit thì phức hệ golgi lại chính là phân xưởng sản xuất. Các sản phẩm đóng gói trong phức hệ golgi không chỉ cung cấp các chất tiết, mà còn cung cấp các cấu thành protein và glicoprotein để tái tạo lại màng sinh chất, cung cấp hệ enzim cho lizoxom.

6.4. Nguồn gốc của phức hệ golgi

Khi phân bào, các cấu thành của phức hệ golgi được phân bố cho các tế bào con. Các cấu thành của phức hệ golgi có nguồn gốc từ mạng lưới nội chất trơn.

VII- LIZOXOM (LYSOSOME)

Lizoxom được De Duve mô tả lần đầu tiên vào năm 1959, là bào quan dạng túi bóng, được giới hạn bởi màng lipoprotein và chứa các enzim thuỷ phân (hydrolaza). Vi khuẩn và hồng cầu động vật có vú thiếu nhân không có lizoxom, mặc dù một số vi khuẩn có tiết ra một số enzim thuỷ phân.

Kích thước, hình dạng của lizoxom có thể thay đổi tuỳ trạng thái hoạt động chức năng, vì vậy người ta phân biệt hai dạng:

– Lizoxom cấp l: Là lizoxom mới được tạo thành chưa tham gia vào quá trình hoạt động phân giải.

– Lizoxom cấp 2: Là lizoxom đang tham gia hoạt động phân giải, có hai loại lizoxom cấp 2: Heterolizoxom xuất hiện do kết quả kết hợp của lizoxom cấp 1 với phagoxom. Otolizoxom được tạo thành do sự kết hợp của lizoxom cấp 1 với otophagoxom.

Thể còn lại là thể chứa các chất còn lại sau khi các heterolizoxom hoặc otolizoxom đã bị phân giải.

7.1. Lizoxom cấp 1

Lizoxom cấp 1 có dạng các túi, bóng được bao bởi màng lipoprotein và chứa các enzim thủy phân chưa tham gia hoạt động phân hủy. Lizoxom cấp 1 thường có dạng cầu hoặc hình trứng có đường kính từ 0,3-0,5μm. Trong tế bào, các lizoxom cấp 1 thường phân bố gần nhân, gần phức hệ golgi. Số lượng lizoxom cấp 1 tuỳ thuộc loại tế bào. Chúng có số lượng lớn trong các tế bào có khả năng thực bào như các đại thực bào, các mô bào, các bạch cầu trung tính, các bạch cầu có hạt ưa axit...

Các lizoxom cấp 1 chứa các enzim thủy phân có hoạt tính trong môi trường axit yếu pH = 5. Trong lizoxom của tế bào gan có tới 40 loại enzim khác nhau. Các enzim của lizoxom có khả năng phân giải 4 loại phân tử chính là các protein, các axit nucleic, các gluxit và các lipit. Độ pH trong lizoxom thường bằng 5 là nhờ sự hoạt động của

bơm proton định khu trong màng lizoxom có tiêu phí năng lượng từ ATP.

Các enzim thủy phân của lizoxom đều là những enzim phân giải, chúng xúc tác phản ứng theo kiểu:

$$AB + H_2O \longleftrightarrow AH + BOH$$

Các enzim của lizoxom đều *được tổng hợp* trong mạng lưới nội chất có hạt sau đó được chuyển đến phức hệ golgi.

Các lizoxom cấp 1 được tạo thành từ sự nảy chồi của các bể chứa của phức hệ golgi và các enzim chứa trong đó. Khi dùng lizin đánh đấu để theo dõi sự tổng hợp enzim, người ta thấy sau 10 phút tiêm, chúng có *mặt trong* mạng lưới nội chất có hạt, sau 80 phút chúng có trong phức hệ golgi và sau 180 phút tiêm, chúng được định khu trong lizoxom.

Vai trò của lizoxom cấp 1 là tích chứa các enzim thuỷ phân và khi cần thiết chuyên chở các enzim này tới các phagoxom và otophagoxom tồn tại trong tế bào chất để tiêu hóa các chất trong đó, hoặc bài xuất ra môi trường ngoại bào theo phương thức xuất bào (exocytosis), ví dụ các cốt bào (osteoblast), bằng cách bài xuất các enzim của lizoxom để phân hủy chất gian bào tạo thành khe, rãnh trong mô xương.

Lizoxom cấp 1 nhắm đúng các đối tượng đích của mình trong tế bào chất để hòa hợp và phân hủy (vai trò tiêu hóa nội bào) (các phagoxom, otophagoxom, endoxom...) là nhờ các protein đặc trưng trên bề mặt màng đóng vai trò "chất neo" nhận biết và liên kết với màng của đối tượng đích. Lizoxom sẽ hòa hợp với các phagoxom để tạo thành các heterolizoxom, và với các otophagoxom để tạo thành các otophagolizoxom là những lizoxom cấp 2.

7.2. Lizoxom cấp 2

Lizoxom cấp 2 là các lizoxom đang hoạt động tiêu hóa nội bào. Tuỳ thuộc đối tượng phân giải, người *ta phân biệt* 2 dạng là heterolizoxom và otolizoxom.

a) Heterolizoxom được tạo thành do sự hòa hợp của lizoxom cấp 1 với phagoxom, hoặc với bóng ẩm bào (pinoxom) hoặc với endoxom. Khi các bóng thực bào (các phagoxom) hoặc các bóng ẩm bào (các pinoxom) nhờ hiện tượng *nhập bào được* đưa vào tế bào chất, thì chúng được chuyển vào vùng trung tâm (nhờ hệ vi ống và vi sợi, nhanh chóng được liên kết và hòa hợp với lizoxom cấp 1 để tạo thành các heterolizoxom.

Bằng phương thức phân giải các chất dinh dưỡng rắn hoặc lỏng trong phagoxom thành các sản phẩm hữu cơ bé, chúng sẽ ra khỏi lizoxom và được tế bào sử dụng như là nguyên liệu hoặc nhiên liệu. Đó là phương thức tiêu hoá nội bào. Ngoài ra các heterolizoxom còn có vai trò bảo vệ chống lại các tác nhân gây bệnh. Các virut và vi khuẩn được thực bào và bị tiêu diệt bởi các enzim của lizoxom. Các độc tố và dược phẩm cũng bị phân giải và khử độc bởi lizoxom.

b) Các otolizoxom là các bóng tự tiêu trong đó bản thân các cấu trúc của tế bào bị tiêu hủy nhờ các enzim của lizoxom. Đó cũng là vai trò tự tiêu của lizoxom đối với tế bào. Tế bào luôn luôn đổi mới thành phần cấu tạo bằng cách phân hủy protein cũ và thay thế bằng protein mới. Sự phân hủy các cấu trúc tế bào được thực hiện nhờ 3 quá trình:

– Phân hủy do sự có mặt của enzim thủy phân có trong dịch nhân, hoặc trong tế bào chất không thuộc lizoxom.

– Phân hủy các cấu thành nhờ hệ enzim thủy phân giải phóng từ lizoxom.

– Phân hủy nhờ quá trình tự tiêu trong lizoxom.

Các otolizoxom được hình thành do sự kết hợp của các otophagoxom với các lizoxom cấp 1. Các otophagoxom được tạo thành trong tế bào từ mạng lưới nội chất trơn ở dạng các bóng có chứa bào quan (ví dụ ty thể), hoặc mảnh cấu trúc tế bào cần tiêu hủy. Khi mới hình thành, các otophagoxom gồm 2 lớp màng, về sau lớp màng trong bị tiêu hủy chỉ còn giữ lớp màng ngoài, khi đó các lizoxom cấp 1 sẽ hòa hợp với otophagoxom, giải phóng vào đó các enzim thủy phân để phân giải các cấu trúc chứa trong đó. Trong trạng thái bình thường, phương thức tự tiêu và đổi mới các bào quan là hiện tượng luôn xảy ra và là một cách tái sử dụng các chất - đó là hiện tượng quay vòng (turn over) các bào quan. Ví dụ, ty thể có thời gian nửa sống là 15 ngày trong tế bào gan và cứ 15 phút lại có 1 ty thể bị phân hủy bằng tự tiêu và được thay thế bằng ty thể mới.

Sự tự tiêu cần thiết cho quá trình biệt hóa tế bào, trong quá trình phát triển phôi, trong quá trình biến thái. Sự thoái hóa đuôi nòng nọc ở ếch nhái là do hoạt động của các otolizoxom. Hoocmon thyroxin (hoocmon tuyến giáp) có tác dụng kích thích hoạt động tự tiêu của lizoxom.

Sự tự tiêu là phương thức giải độc của tế bào. Các chất độc có thể bị cô lập trong các otolizoxom do đó hạn chế tác động của chúng. Sự

tự tiêu là phương thức để tế bào sử dụng các chất cần thiết bằng cách tự phân hủy các cấu trúc của bản thân trong điều kiện bất lợi như đói, thiếu chất dinh dưỡng v.v...

Sự tự tiêu cũng là phương thức để tế bào "dọn sạch" các tế bào chết hoặc phân huỷ các sản phẩm dư thừa không cần thiết trong tế bào.

7.3. Các thể còn lại

Là các bóng ở dạng không bào được tạo thành từ các heterolizoxom hoặc otolizoxom trong đó còn tồn dư các chất chưa bị phân giải bởi enzim của lizoxom. Các chất đó trong thể còn lại rất đa dạng, đó là các mảnh mielin, các sắc tố mật, ferritin, lipofuscin và các chất lạ khác. Ngoài ra, trong thể còn lại còn ít nhiều các enzim thủy phân. Các chất tồn dư thường được xuất bào ra ngoài, nếu không tế bào có thể bị chết.

7.4. Các bệnh có liên quan đến lizoxom

Đó là những bệnh có liên quan đến sự bất bình thường trong cấu trúc màng hoặc hệ enzim của lizoxom. Màng lizoxom thường được bảo vệ khỏi tác động của các enzim bản thân chúng nhờ lớp glicoprotein phủ phía trong, nhưng có thể bị phá hủy do tác động của nhiều nhân tố như sốc, co giật, ngạt oxy, các nội độc tố, virut, các kim loại nặng, silic, các tia UV, RX...

Khi màng lizoxom bị hư hỏng như trong trường hợp các lizoxom cấp 2 tích lũy các hạt bụi silic, amiant, beryl v.v...'(trường hợp các thợ mỏ) do đó các enzim lizoxom bị giải phóng tác động lên các phế nang gây nên bệnh *viêm phổi* (pneumoconiose) ở các thợ mỏ.

Sự phá hủy màng lizoxom còn quan sát thấy trong các bệnh nhiễm trùng do *Streptococcie*. Bọn vi khuẩn này có khả năng làm tiêu màng lizoxom, do đó các enzim được giải phóng tiêu hủy tế bào và từ đó giải phóng vi khuẩn vào các tế bào khác.

Màng lizoxom có thể bị sai lệch do di truyền đã dẫn tới biến đổi tính thấm của màng lizoxom gây nên bệnh *Chadiak - Streinbrink - Higashi*. Biểu hiện của bệnh là giảm sức đề kháng, to tỳ, to gan, to hạch limpho, sợ ánh sáng và bị bạch tạng. Trẻ em bị bệnh này thường dẫn đến tử vong. Sự sai lệch trong hệ enzim của lizoxom như thiếu một hoặc nhiều loại enzim đều dẫn đến bệnh được gọi là *Thesaurismose*, nguyên nhân có thể do di truyền như thiếu hoặc sai lệch gen chịu trách nhiệm tổng hợp enzim, như trong bệnh *Pompe* hay còn gọi là

bệnh *tim mạch thừa glicogen II* là do thiếu enzim - glucozidaza axit trong lizoxom cho nên glicogen không được phân hủy, tích lũy lại trong lizoxom dẫn tới các biểu hiện lâm sàng như sai lệch về tim, về hô hấp và dẫn tới tử vong.

Sự tích lũy nhiều chất trong lizoxom do thiếu enzim phân giải chúng do nguyên nhân di truyền còn dẫn tới nhiều bệnh khác như bệnh thần kinh v.v... Bệnh *Thesaurimose* còn có thể gây nên do các tác nhân bên ngoài, như các bệnh về thận do lizoxom của tế bào ống thận tích đầy protein không được thủy phân.

VIII- PEROXIXOM (PEROXYSOME)

8.I. Cấu trúc siêu vi

Một loại bào quan gần với lizoxom là peroxixom. Chúng là các bóng được bao bởi màng lipoprotein có kích thước từ 0,15 - 1,7μm. Màng lipoprotein của peroxixom có cấu tạo giống với màng sinh chất và có độ dày 6 - 8nm, rất giống với màng của mạng lưới nội chất trơn và chắc là chúng có nguồn gốc từ loại màng đó. Bên trong màng là chất nền (matrix), là chất đồng nhất hoặc chứa các hạt nhỏ, hoặc các sợi phân nhánh. Ở trung tâm của chất nền (đối với một số tế bào động vật) có chứa một thể đặc có cấu tạo ống. Trong peroxixom có chứa các enzim oxy hóa đặc trưng: catalaza, D.amino - oxydaxa; urat-oxydaza, trong đó catalaza là enzim có trong tất cả peroxixom.

Enzim catalaza có vai trò phân giải peroxit hydro (H_2O_2) và biến chúng thành H_2O (vì vậy có tên gọi là peroxixom).

Enzim D. amino - oxydaza có tác động lên các D. axit amin một cách đặc trưng. Enzim urat - oxydaza (hay uricaza) thường định khu trong thể đặc hình ống, có tác động phân giải axit uric là sản phẩm trao đổi chất của các purin. Ở bọn linh trưởng và người, peroxixom không có thể đặc hình ống nên không có enzim uricaza. Vì vậy axit uric không được phân giải, cho nên trong nước tiểu của chúng có axit uric. Đối với các động vật khác, nước tiểu của chúng không có axit uric vì axit uric đã bị enzim uricaza trong peroxixom oxy hóa thành allantoin.

Các enzim của peroxixom được tổng hợp trên các riboxom tự do trong tế bào chất và được vận chuyển vào peroxixom. Ví dụ, các mạch polipeptit đơn hợp của catalaza được tổng hợp trong tế bào chất sẽ xâm nhập vào peroxixom, ở đây chúng sẽ được trùng hợp với sự có mặt của nhân hem tạo thành enzim tetramer.

8.2. Chức năng của peroxixom

Peroxixom có vai trò quan trọng trong tế bào. Chúng tham gia quá trình chuyển hóa các axit nucleic ở khâu oxy hoá axit uric (là sản phẩm chuyển hóa của purin). Peroxixom tham gia điều chỉnh sự chuyển hóa glucozơ và phân giải H_2O_2 là sản phẩm độc hại thành H_2O nhờ enzim catalaza.

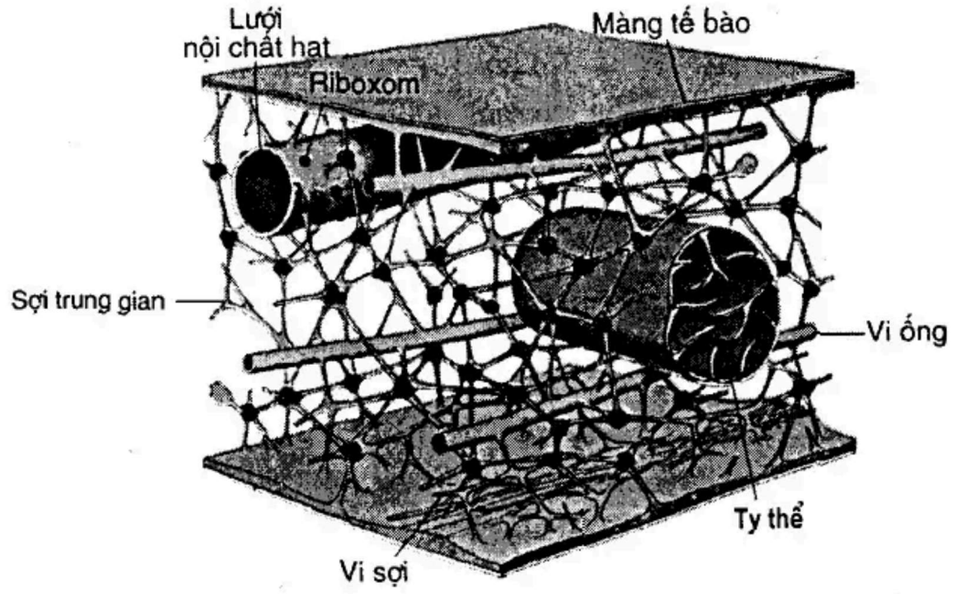
IX- GLIOXIXOM (GLYOXYSOME)

Ở tế bào thực vật có chu trình glioxilat là quá trình chuyển hóa các lipit thành gluxit - là quá trình quan trọng và chỉ đặc trưng cho thực vật - và ở một số động vật bậc thấp. Ở động vật có xương sống bậc cao không có quá trình này.

Chu trình glioxilat được thực hiện bởi một loại peroxixom đặc biệt được gọi là glioxixom nhờ hệ enzim của chu trình chứa trong đó.

X- BỘ XƯƠNG TẾ BÀO: VI SỢI VÀ VI ỐNG

Trong tế bào chất, ngoài các bào quan, các chất ẩn nhập còn tồn tại hệ thống các vi sợi (microfilament) và vi ống (*microtubule*) phân bố thành mạng lưới tạo nên bộ khung xương nâng đỡ của tế bào (hình 4.6). Hệ thống vi sợi và vi ống không chỉ có vai trò nâng đỡ mà còn có vai trò vận động. Chúng có thể nằm riêng lẻ hoặc tập hợp thành bó



Hình 4.6. *Sơ đồ bộ khung xương của tế bào*

đơn giản, hoặc tập hợp thành các cấu trúc phức tạp có chức năng đặc biệt như tơ cơ (myofibrille) trong hợp bào cơ vân, trung tử (centriole) trong trung thể, thoi phân bào, lông hoặc roi v.v... đều là các cấu trúc đảm nhận chức năng vận động.

10.1. Các vi sợi (Microfilament)

Thường có 3 loại vi sợi: vi sợi actin, vi sợi myozin và vi sợi trung gian.

a) Vi sợi actin là vi sợi được cấu tạo từ protein actin. Actin là loại protein rất phổ biến trong tế bào Eucaryota và có hàm lượng rất lớn (chiếm 5% protein tổng số của tế bào). Các vi sợi actin thường phân bố khắp khối tế bào chất, nhưng ở đa số tế bào động vật chúng xếp thành bó song song hoặc mạng lưới nằm trong lớp ngoại sinh chất (ectoplasma) sát ngay dưới màng sinh chất. Nhiều khi các bó, mạng vi sợi actin liên kết với màng sinh chất trực tiếp, hoặc thông qua các protein liên kết (như spectrin, α-actinin, clathrin) có vai trò nâng đỡ và cố định màng. Các vi sợi trong bó hoặc trong mạng liên kết với nhau nhờ các protein dính kết như fibrin, fodrin dính kết các vi sợi thành mạng lưới.

Có 2 dạng actin: dạng actin cầu (actin G) và dạng actin sợi (actin F). Phân tử protein actin G có khối lượng phân tử 42.000Da, đặc trưng ở chỗ có chứa loại axit amin hiếm là 3 - methyl - histidin. Actin sợi F được tạo thành do sự trùng hợp các actin G khi có ion Mg^{2+} và ATP. Sợi actin F là sợi xoắn kép có đường kính 7nm ,và bước xoắn dài 72nm. Sự trùng hợp các actin F là quá trình thuận nghịch và được điều chỉnh bởi màng sinh chất để cho các vi sợi actin F được hình thành ở những nơi và thời gian mà tế bào cần thiết. Sự trùng hợp các vi sợi actin có liên quan đến sự vận động của tế bào. Các vi sợi actin có vai trò quan trọng đối với tế bào, nhất là tế bào động vật. Các vi sợi actin đóng vai trò nâng đỡ, cố định màng sinh chất và được xem như khung xương tế bào. Các vi sợi actin xếp thành bó trong tế bào chất của vi mao (microvilli), đóng vai trò cơ học giữ ổn định cho vi mao. Vai trò vận động là vai trò chính của các vi sợi. Các dạng vận động của tế bào như dòng tế bào chất, vận động chân giả, vận động các bào quan từ phần này đến phần khác của tế bào chất đều có liên quan đến hoạt động của các vi sợi actin kết hợp với các vi sợi myozin.

Đối với tế bào cơ thì các vi sợi actin và vi sợi myozin được tổ chức thành cấu trúc có trật tự là các tơ cơ (myofibrille) sẽ được xem xét ở

phần sau. Hoạt động vận động của các vi sợi actin và myozin đều cần đến năng lượng từ ATP và liên quan đến nồng độ các ion Mg^{2+} và Ca^{2+}.

Các vi sợi actin còn đóng vai trò tăng cường mối liên kết giữa các tế bào cạnh nhau - tham gia tạo các liên kết và cầu nối tế bào. Nhờ sự trùng hợp và giải trùng hợp các vi sợi actin mà tế bào chất có sự chuyển đổi từ trạng thái gel sang trạng thái sol và ngược lại.

b) Vi sợi myozin là các vi sợi được cấu tạo từ protein myozin. Các vi sợi myozin không chỉ có trong tế bào cơ mà còn có trong rất nhiều loại tế bào khác. Các vi sợi myozin liên kết với các vi sợi actin bảo đảm cho hoạt tính vận động của tế bào. Trong tế bào cơ, các vi sợi myozin tạo nên các sợi dày của tơ cơ (xem phần sau). Myozin là loại protein phức tạp có khối lượng phân tử 450.000Da, là một phân tử dài, bất đối xứng, có đường kính 2nm và chiều dài 150nm. Phân tử myozin có 6 mạch polipeptit: 2 mạch nặng và 2 đôi mạch nhẹ. Vi sợi myozin có cấu tạo gồm thân sợi chứa 2 đôi mạch nhẹ có dạng xoắn (phần đuôi); đầu và cuối được cấu tạo từ 2 mạch nặng dạng cầu. Các vi sợi myozin phân bố trong tế bào chất thường ngắn, còn trong sợi cơ thường có chiều dài đạt tới 1,5μm.

c) Vi sợi trung gian là loại vi sợi phổ biến trong các tế bào Eucaryota, là các vi sợi có độ dày từ 8 - 10nm, tức là dày hơn các vi sợi actin và bé hơn các vi ống. Chúng được cấu tạo từ nhiều loại protein khác nhau như vimentin, desmin, GFA (Glial fibrillary acidic protein - protein axit sợi keo), cytokeratin v.v... ,Tuỳ theo bản chất protein cấu tạo nên chúng, người ta phân các vi sợi trung gian thành 4 kiểu:

– Kiểu I. Bao gồm các vi sợi vimentin: keratin axit, keratin trung tính và keratin kiềm có trong các tế bào biểu bì da, trong tóc và móng.

– Kiểu II. Bao gồm các vi sợi vimentin (có trong các tế bào trung mô), các vi sợi desmin (có trong các tế bào cơ trơn và cơ vân), các vi sợi GFA (có trong các tế bào thần kinh giao).

– Kiểu III. Bao gồm các tơ thần kinh (neurofilament) tạo nên bộ xương của nơ ron.

–Kiểu IV. Bao gồm các vi sợi lamin tạo nên tấm lamina của màng nhân.

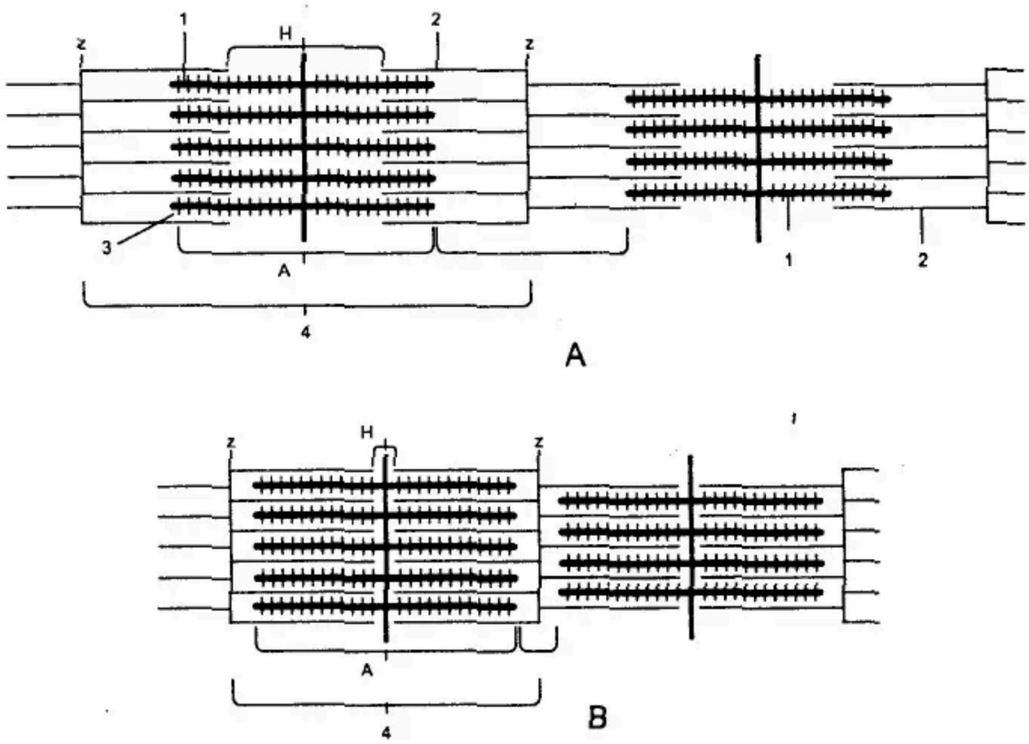
Trong tế bào, các vi sợi trung gian định khu rất đặc trưng, chúng

phân bố thành hình giỏ quanh nhân hoặc xếp kéo dài tận màng sinh chất, có khi xâm nhập cả vào màng sinh chất như trường hợp tại các desmoxom. Các vi sợi trung gian đều có cấu tạo phức tạp gồm nhiều nguyên sợi (protofilament) (thường có đến 9 nguyên sợi) xếp xoắn với nhau. Về chức năng, *các vi sợi trung gian có vai trò cơ học, giữ cho tế* bào có độ vững chắc nhất định, vì vậy chúng rất phát triển ở tế bào động vật, nhất là ở những tế bào đảm nhiệm vai trò cơ học.

10.2. Tơ cơ (Myofibrille)

a) Cấu trúc tơ cơ

Các sợi cơ vân là các hợp bào mà trong cơ chất (sarcoplasma) của chúng chứa rất nhiều vi sợi xếp song song tạo nên cấu trúc gọi là tơ cơ (myofibrille) (hình 4.7).



Hình 4.7. *Cấu trúc tơ cơ*
A. Tơ cơ ở trạng thái duỗi. B. Tơ cơ ở trạng thái co.
1. Vi sợi dày; 2. Vi sợi mảnh; 3. Đầu (mấu bên của vi sợi myozin); 4. Tiết cơ.

Tơ cơ có đường kính từ 1 - 2μm làm chức năng co cơ, là cấu trúc hình trụ xếp chạy dọc suốt sợi cơ. Người ta đã tính được trên 1cm^2 cơ vân người có đến 100 triệu tơ cơ. Được gọi là cơ vân vì tơ cơ có cấu

trúc vân ngang (hay là đĩa) xếp xen kẽ nhau trên chiều dọc tơ cơ. Những vân tối, đĩa A (có tên từ Anisotrope) có chiều dài 1,5μm. Đĩa A được chia đôi thành 2 nửa bởi dải ngang H (Hensen). Ở chính giữa dải H có vạch M. Những vân sáng - đĩa I (có tên từ Isotrope) có chiều dài 0,8μm và được chia đôi bởi dải ngang Z. Một đoạn tơ cơ kéo dài từ dải Z này đến dải Z kia được gọi là một tiết cơ (sarcomere). Tiết cơ bao gồm 1 đĩa A và 2 nửa đĩa I. Trong sợi cơ, tất cả các vân ngang xếp xen kẽ của toàn bộ tơ cơ đều ở mức độ ngang nhau cho nên tạo cho sợi cơ vân có cấu tạo vân ngang. Những nghiên cứu về hiển vi điện tử và sinh hóa đã làm sáng tỏ cấu trúc phức tạp của tơ cơ. Tơ cơ được cấu tạo từ 2 loại vi sợi tách biệt nhau về kích thước và thành phần sinh hóa. Các vi sợi dày (vi sợi A) là vi sợi myozin có đường kính 10nm và chiều dài 1,5 μm. Các vi sợi mảnh (vi sợi I) là vi sợi actin có đường kính bé hơn từ 5-7nm và dài khoảng 1μm. Các vi sợi I được nối ngang với nhau nhờ dải Z. Các vi sợi A và I trong tơ cơ xếp song song với nhau và theo một trật tự nhất định tạo nên cấu trúc vân ngang (đĩa A và đĩa I) của tơ cơ. Đĩa A chứa các vi sợi A và một phần các vi sợi I, đĩa I chỉ chứa các vi sợi I. Giải H nằm giữa đĩa A chỉ chứa vi sợi A, ở đây phần giữa vi sợi A bị phồng lên tạo thành vạch M. Như vậy các vi sợi A chạy dọc suốt đĩa A, còn các vi sợi I chạy suốt đĩa I và chạy vào một phần đĩa A (ở giới hạn giải H) xen kẽ vào các vi sợi A. Ở miền xen kẽ này các vi sợi A xếp xen kẽ các vi sợi I theo cách một vi sợi A được bao quanh bởi 6 vi sợi I và một vi sợi I được bao bởi 3 vi sợi A, vì vậy số lượng vi sợi I gấp đôi vi sợi A. Về thành phần hóa học, như ta đã biết, các vi sợi A được cấu tạo từ myozin, chúng có một đuôi xoắn và 2 đầu hình cầu xếp chẻ ra 2 bên. Các đuôi dài của myozin cấu tạo nên các vi sợi dày (sợi A), còn phần đầu tạo nên các mấu bên của vi sợi A. Các mấu bên của vi sợi A do phần đầu phân tử myozin tạo nên có chiều dài 4nm và xếp cách nhau 6-7nm. Các mấu bên có chức năng liên kết myozin với actin tạo thành phức hợp actomyozin khi co cơ, đồng thời chúng chứa trung tâm có hoạt tính ATPaza. Các vi sợi I là các vi sợi actin được cấu tạo từ các protein actin, tropomyozin và troponin. Các actin cầu (actin G) là phân tử protein có khối lượng phân tử 42.000-45.000Da, đường kính 5,5nm, sẽ trùng hợp tạo thành actin sợi (actin F) khi có các ion Mg^{2+} hoặc Ca^{2+} và ATP. Các actin F tạo nên các vi sợi actin xoắn có đường kính 5-7nm. Phân tử actin chứa trung tâm có khả năng liên kết đặc hiệu với phần đầu của myozin. Tropomyozin là protein sợi có đường kính 2nm và chiều dài.

40nm với khối lượng phân tử 130.000 Da và gồm 2 mạch polipeptit xoắn với nhau. Các phân tử tropomyozin liên kết với các sợi actin theo rãnh xoắn. Troponin là protein cầu có khối lượng phân tử 86.000 Da, chúng phủ các vị trí kết hợp với myozin của phân tử actin. Trên một vi sợi actin có chứa tới 48 đôi phân tử troponin. Troponin có ái lực mạnh với ion Ca^{2+}.

b) Cơ chế của sự co cơ

Cấu trúc siêu hiển vi và thành phần sinh hóa của tơ cơ là cơ sở để ta hiểu rõ cơ chế của sự co cơ. Sự co hoặc giãn của cơ chính là sự hoạt động của các vi sợi A và I trong tơ cơ. Khi co cơ, các vi sợi actin trượt lên các vi sợi myozin, mấu bên của vi sợi myozin liên kết với actin qua trung tâm kết hợp để tạo nên phức hợp actomyozin. Sự kết hợp này cần có ATP. ATP đính vào mấu bên của myozin ở trung tâm có hoạt tính ATP-aza. Khi trong cơ chất có nhiều ion Ca^{2+} (khi màng cơ nhận kích thích từ thần kinh ở xinap cơ - thần kinh thì acetylcholin gây nên sự khử cực màng cơ và tạo nên điện thế hoạt động từ màng cơ, lan truyền vào mạng lưới nội sinh chất và từ đây các ion Ca^{2+} xâm nhập vào cơ chất) thì ion Ca^{2+} sẽ bám vào troponin làm dịch chuyển tropomyozin, do đó actin để lộ rõ các trung tâm liên kết với myozin. Khi ATP bị phân giải thành ADP và P, phần đầu của myozin bị biến đổi thù hình và liên kết với trung tâm kết hợp của actin. Khi duỗi cơ là khi ion Ca^{2+} tách bỏ troponin, tropomyozin dịch chuyển phủ che các trung tâm kết hợp của actin.

10.3. Vi ống (Microtubule)

Vi ống là những cấu trúc hình trụ dài có đường kính trung bình 25nm, có thành bên và rỗng ở giữa (cấu tạo ống). Vi ống và vi sợi tạo nên khung xương tế bào, đồng thời chúng tham gia vào sự vận động, sự biệt hóa tế bào, vận chuyển chất nội bào. Các vi ống có thể ở dạng phân bố tự do trong tế bào chất tạo nên sao và thoi phân bào, tạo nên các vi ống thần kinh của axon. Các vi ống có thể tập hợp thành cấu trúc ổn định như trung tử, hạt nền, lông và roi. Vi ống có đường kính trung bình 25nm, có thành ống dày 5nm và lòng ống trung tâm rộng 15nm. Vi ống có chiều dài thay đổi, có khi dài tới vài µm và không phân nhánh. Thành ống được cấu tạo bởi 13 nguyên sợi có đường kính 5nm. Số nguyên sợi có thể thay đổi từ 9 đến 14 tuỳ loại vi ống được cấu tạo từ protein - tubulin A và B. Các nguyên sợi của vi ống là

phân tử trùng hợp từ các nhị hợp (dimere) với khối lượng phân tử từ 110.000-120.000Da. Các nhị hợp được tạo thành bởi 2 đơn hợp (monomere) cùng loại (ví dụ A + A hoặc B + B), hoặc bởi 2 đơn hợp khác loại (A + B), tuỳ loại vi ống. Chất colchicin có tác dụng ức chế sự trùng hợp các nhị hợp thành vi ống, do đó chúng ức chế sự tạo thành thoi phân bào và do đó tế bào bị ức chế ở trung kỳ. Các nhị hợp tubulin có trung tâm liên kết với GTP, trung tâm liên kết với các chất ức chế alcaloit (colclicin, vinblastin...). Sự trùng hợp các nhị hợp tạo thành nguyên sợi tubulin và từ đó tập hợp nên vi ống, đòi hỏi phải có ion Mg^{2+} và GTP. Sự trùng hợp là thuận nghịch.

Trong tế bào, vi ống có vai trò sau đây:

– Làm chuyển động các nhiễm sắc thể về 2 cực, nhờ các vi ống của thoi phân bào kết hợp với sao phân bào.

Ở giai đoạn tiền kỳ của phân bào, các vi ống được hình thành (nhờ hoạt động của trung tử) tạo nên các sợi của thoi. Có loại sợi cực là sợi nối liền 2 cực, có loại sợi tâm động là sợi nối cực với tâm động của nhiễm sắc thể (sợi mang nhiễm sắc thể) và loại sợi của sao là sợi xếp phóng xạ quanh trung tử ở 2 cực. Sự di chuyển của nhiễm sắc thể về 2 cực xảy ra là do sự rút ngắn các vi ống tâm động nhờ sự giải trùng hợp của vi ống.

– Vận tải nội bào: Các bào quan như ty thể, các bóng nội bào v.v... được vận chuyển từ phần này đến phần khác của tế bào chất là nhờ hoạt động của vi ống. Ví dụ, trong sợi axon của nơron có rất nhiều vi ống, chúng có vai trò vận chuyển các bóng nội bào từ thân nơron đến vùng xinap hoặc ngược lại. Trong các tế bào sắc tố có chứa các hạt sắc tố (melanosome). Các hạt có thể di chuyển phân tán ra ngoại vi tế bào (khi da có màu sẫm tối), hoặc tập trung vào trung tâm tế bào (khi da có màu sáng). Sự di chuyển các hạt sắc tố là do hoạt động của vi ống.

– Duy trì hình dạng của tế bào: Nhiều tế bào biệt hóa có hình dạng nhất định và hình dạng đó được duy trì nhờ sự sắp xếp của hệ vi ống. Ví dụ, các sợi bào (Fibroblast) trong nuôi cấy thường có dạng kéo dài, có phần lồi hình sóng và trong tế bào chất có nhiều vi ống. Khi bị xử lý bằng colchicin, vi ống biến mất và tế bào trở nên tròn hoặc đa giác. Trong quá trình biệt hóa tế bào, các tế bào có hình dạng đặc thù là có liên quan đến hoạt động của vi ống.

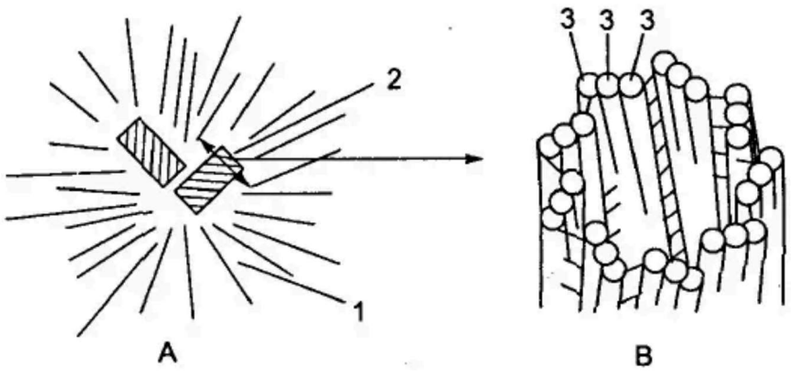
– Vi ống còn tham gia vào sự hình thành, vận chuyển các bóng nhập bào, xuất bào, duy trì tính ổn định của màng sinh chất, cũng

như tạo tính phân cực cho tế bào. Vi ống được hình thành từ trung tâm tổ chức vi ống (microtubule organizing center - MTOC), tức là từ trung tử (centriole).

Trung tử có ở tất cả các tế bào động vật. Trong tế bào thực vật không có trung tử, nhưng các vi ống vẫn được tạo thành từ phần tế bào chất có mật độ điện tử đậm đặc tương ứng với miền bao quanh trung tử ở tế bào động vật.

XI- TRUNG THỂ (CENTROSOME)

Trung thể là bào quan được Hertwig phát hiện từ năm 1875. Trung thể có trong tất cả các tế bào động vật đa bào cũng như đơn bào. Tế bào thường chứa một trung thể được phân bố cạnh nhân tế bào. Trung thể được cấu tạo gồm trung tử (centriole) và chất quanh trung tử (pericentriole) (hình 4.8). Ngày nay các nhà tế bào học gọi trung thể là MTOC (microtubule organizing center - trung tâm tổ chức vi ống). Tế bào thực vật không có trung tử và MTOC của chúng chỉ là chất quanh trung tử - tương ứng với trung thể của động vật.



Hình 4.8. Cấu trúc của trung thể (A) và trung tử (B)
1. Trung cầu; 2. Trung tử; 3. Bộ ba vi ống ngoại vi.

11.1. Trung tử (centriole)

Trung thể thường có một hoặc hai trung tử xếp thẳng góc (được gọi là diplosome - thể đôi). Trung tử có cấu tạo hình trụ, có đường kính từ 0,15 - 0,25μm và chiều dài 0,7μm. Thành trụ chứa 9 nhóm 3 vi ống (microtubule) được gọi là bộ ba (triplet) (hình 4.8) và có tên là vi ống A, B và C. Các vi ống hay phụ sợi trong nhóm bộ ba xếp sát cạnh nhau, xếp theo kiểu ống A ở gần trục nhất rồi đến ống B và xa trục nhất là ống C. Vi ống A và B có chung thành ống và vi ống B

chung thành ống với C. Các vi ống có đường kính từ 20 - 26nm. Vi ống có thành ống được cấu tạo bởi 13 vi sợi có đường kính khoảng 4, 5nm. Các vi sợi bao quanh xoang trung tâm. Các bộ ba được nối với nhau bởi protein nexin nối từ ống A đến C, do đó giữ cho vị trí ổn định của bộ ba. Trên lát cắt ngang trung tử ta thấy bộ ba xếp quanh thành có dạng bánh xe. Các bộ ba vi ống tạo thành vành bánh xe. Bánh xe được cố định bởi các rayông nối từ vi ống A với lòng ống trung tâm.

11.2. Chất quanh trung tử (*pericentriole*)

Trong chất quanh trung tử (là phần tế bào chất bao quanh trung tử theo tài liệu cũ thường gọi là trung cầu - centrosphere), có chứa các cấu trúc:

– Các thể kèm quanh trung tử là các cấu trúc hình cầu có kích thước 40 - 70nm có cuống đính với các vi ống của trung tử.

– Hệ thống gồm các vi ống tự do xếp phóng xạ quanh trung tử.

11.3. Thành phần sinh hóa

Trong trung tử cũng như thể nền (basal *corpuscule*) có protein chủ yếu là tubulin A và B. ARN (khoảng 2%) và gluxit (2%). Ngoài ra người ta còn tìm thấy ADN trong trung tử - tuy rằng dẫn liệu này chưa được khẳng định.

11.4. Vai trò của trung thể

Trong tế bào động vật, trung thể đóng vai trò quan trọng trong sự phân bào (tạo thành bộ máy phân bào), trong sự tạo thành các vi ống và định hướng cho các vi ống. Trung thể được xem là trung tâm tổ chức vi ống (MTOC), bởi vì khi có ATP, trung thể kích thích sự trùng hợp hóa các nhị hợp tubulin tạo thành các vi sợi tubulin (các vi ống). Khi tế bào đi vào phân chia nguyên nhiễm (mitosis), hoặc giảm nhiễm (meiosis) thì có bộ máy phân bào gồm có sao và thoi phân bào. Trung thể có vai trò hình thành và điều chỉnh bộ máy phân bào. Ở cuối giai đoạn G1 và vào đầu giai đoạn S, ở phần cuối mỗi trung tử trong diploxom sẽ hình thành các tiền trung tử (*procentriole*). Bước vào tiền kỳ của phân bào, các tiền trung tử phát triển thành trung tử tạo thành hai cặp diploxom, đồng thời mỗi diploxom di chuyển về 2 cực tế bào. Đồng thời với sự phân hóa của trung tử, các vi ống được

tạo thành xếp phóng xạ quanh trung tử, tạo thành sao phân bào. Giữa 2 sao phân bào, các vi ống xếp thành hình thoi tạo nên thoi phân bào, bao gồm các vi ống nối 2 cực và loại vi ống liên kết với nhiễm sắc thể qua tâm động ở phần xích đạo. Sao cũng như thoi phân bào có trách nhiệm định hướng và dịch chuyển các nhiễm sắc thể con về đúng 2 cực trong hậu kỳ và mạt kỳ của phân bào. Đến giai đoạn mạt kỳ, thoi phân bào biến mất do sự giải trùng hợp của vi ống và trung thể tồn tại trong tế bào con, không có biến đổi cho đến cuối G1. Đối với tế bào thực vật không có trung tử, các vi ống của thoi được tạo thành từ phần tế bào chất đặc biệt tương ứng với chất quanh trung tử (vì vậy ở thực vật được gọi là sự phân bào không sao). Chất colchicin ức chế sự trùng hợp tubulin do đó ức chế sự tạo thành thoi, được sử dụng như chất ức chế trung kỳ để tạo các đột biến đa bội thể, vì các nhiễm sắc thể đã được nhân đôi không phân chia về 2 cực do thiếu thoi phân bào.

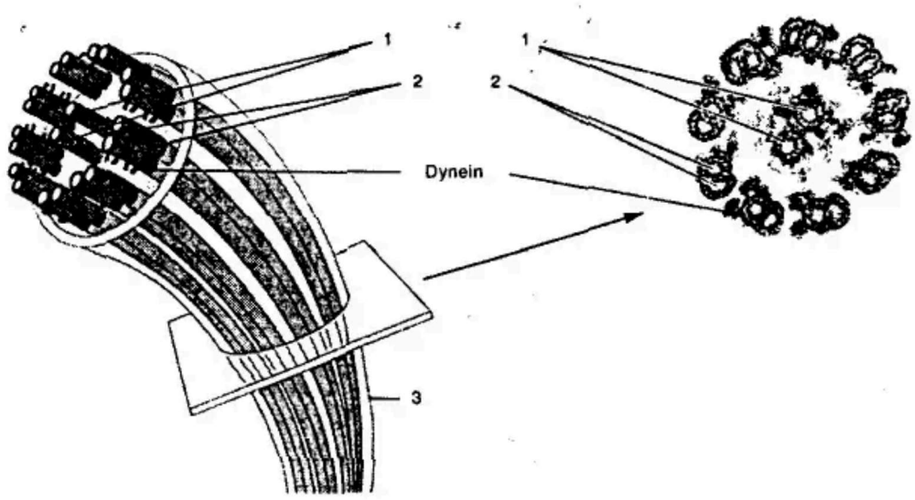
Trung tử đóng vai trò tạo thành các tiền trung tử và từ đây phân hóa thành trung tử mới, trung tử còn tạo nên thể nền là cấu trúc nằm ở gốc lông và roi. Thể nền có cấu tạo giống trung tử, chúng có vai trò tái tạo lại cấu trúc của lông và roi.

XII- LÔNG VÀ ROI

Lông hay là tiêm mao (cilia), và roi hay là tiên mao (flagella) là những phần lồi tế bào chất được bao bởi màng, có chứa hệ vi ống, có chức năng vận động. Người ta phân biệt lông với roi ở chiều dài của chúng và số lượng của chúng trong tế bào. Lông có chiều dài từ 10 - 20μm và có số lượng rất nhiều, có khi đạt tới 300 lông/1 tế bào. Lông là bào quan vận động của nhiều loại động vật đơn bào, của nhiều loại tế bào của cơ thể đa bào (ví dụ các tế bào biểu mô lót thành ống). Roi có chiều dài lớn hơn đạt tới 150μm và chỉ có một hoặc hai chiếc/1 tế bào. Roi có ở bọn động vật đơn bào và ở tế bào của đa bào (ví dụ tinh trùng có đuôi được xem như roi và có cấu tạo giống roi).

12.1. Cấu trúc của lông và roi

Lông và roi có diện cấu trúc siêu vi giống nhau. Chúng có dạng hình trụ với đường kính 0,2μm được bao bởi lớp màng lipoprotein dày 9nm, tiếp với màng sinh chất ở phần nền. Chúng chứa hệ thống vi ống thẳng xếp dọc song song gồm 2 nhóm (theo kiểu 9 + 2) (hình 4.9).



Hình 4.9. *Cấu trúc siêu vi của lông và roi theo kiểu 9+2 vi ống*
1. Đôi vi ống trung tâm; 2. 9 đôi vi ống ngoại vi; 3. Màng sinh chất bao quanh.

– 1 đôi vi ống trung tâm với đường kính 20nm, có thành ống dày khoảng 5-7nm. Thành ống được cấu tạo từ 13 vi sợi có bản chất protein (tubulin A và B), có độ dài khoảng 4nm.

– 9 đôi ống ngoại vi xếp xung quanh đôi ống trung tâm. Vi ống ngoại vi có đường kính từ 18 - 22nm. Đôi ống ngoại vi gồm 2 ống được ký hiệu là ống A và ống B, xếp sát liền nhau. Ống A có kích thước bé hơn và ở gần trục trung tâm hơn. 9 đôi ống ngoại vi được cố định bởi các cầu nối nexin. Ống A có mang 2 mấu hay là tạy bên được cấu tạo từ protein - dynein. Thành của ống A có 13 vi sợi, còn thành ống B có 10 vi sợi. Vi sợi có bản chất tubulin và có đường kính 4nm. Đôi ống trung tâm được bao bởi một bao và các đôi ngoại vi được nối với bao nhờ các rayông nối từ ống A với bao trung tâm.

12.2. Thể nền (basal corpuscule)

Có cấu tạo hình trụ ngắn, kích thước 500nm và đường kính 120 - 150nm, định khu trong tế bào chất ngay dưới gốc lông hoặc roi. Thể nền có cấu tạo giống trung tử và được tạo thành từ trung tử. Thể nền có vai trò tái sinh lông và roi.

12.3. Vai trò của lông và roi

Lông và roi có vai trò vận động. Nhờ có lông và roi mà các động vật đơn bào chuyển động trong nước, hoặc tinh trùng chuyển động

ngược dòng ống sinh dục. Nhờ sự chuyển động nhịp nhàng mà các tế bào mô lót các xoang ống tạo nên dòng chảy trong lòng ống. Sự chuyển động của lông và roi là do sự trượt của các đôi ống ngoại vi do mấu bên dynein đảm nhiệm. Khi có ATP và ion Ca^{2+} thì mấu dynein sẽ liên kết với đôi ống bên cạnh và trung tâm hoạt tính ATPaza của dynein sẽ liên kết với ATP và thuỷ phân ATP thành ADP và P, do đó thay đổi thù hình của phân tử. Cũng giống myozin, phân tử dynein có 2 hoặc 3 đầu mang phần có hoạt tính ATPaza. Đôi ống trung tâm có chức năng dẫn truyền và điều chỉnh các chuyển động của các đôi ngoại vi.

XIII- KHÔNG BÀO

Không bào thường có nhiều ở tế bào thực vật. Đó là các bóng có kích thước lớn, nhất là ở các tế bào trưởng thành, được giới hạn bởi màng lipoprotein dạng bóng (được gọi là tonoplast) tích đầy nước, trong đó hòa tan các chất hữu cơ và các ion khoáng tạo nên áp suất thẩm thấu cao (tạo sức trương) cho tế bào thực vật. Đối với thực vật, *sức trương do không bào tạo nên có vai trò rất quan trọng trong* nhiều hoạt động sinh lý như sinh trưởng, cảm ứng hướng động, hấp thụ, vận chuyển nước và muối khoáng, trao đổi khí qua khí khổng... Không bào tham gia vào sự sinh sản của thực vật có hoa (trong không bào tích chứa nhiều chất sắc tố quyến rũ côn trùng thụ phấn) và sự đề kháng của thực vật chống lại bọn động vật ăn cỏ (trong không bào có tích chứa các độc tố). Đối với tế bào động vật, không bào không phổ biến. Đối với động vật nguyên sinh, ví dụ, amip hay trùng cỏ sống *trong môi trường nước ngọt có không bào co rút, có vai trò tích nước* và bơm nước ra ngoài cơ thể để giữ cân bằng áp suất thẩm thấu cho cơ thể.

CÂU HỎI KIỂM TRA KIẾN THỨC (ĐÚNG, SAI)

(Chương IV. Tế bào chất và các bào quan)

1. Tế bào chất là cấu tạo đồng nhất không có cấu trúc.
2. Tế bào chất của Eucaryota chứa nhiều bào quan phức tạp.
3. Bào quan là cấu trúc có cấu tạo và chức năng ổn định.
4. Collagen và actin là chất ẩn nhập của tế bào.

5. Sự vận động của tế bào chất có liên quan đến trạng thái sol-gel của tế bào chất.
6. *E.coli* có mạng lưới nội chất.
7. Mạng lưới nội chất trơn có đính riboxom.
8. Mạng lưới nội chất có hạt tham gia tổng hợp protein.
9. Mạng lưới nội chất là hệ thống giao thông nội bào.
10. Mạng lưới nội chất là hệ thống liên thông với màng nhân.
11. Quá trình đường phân xảy ra trong tế bào chất.
12. *E.coli* không có riboxom.
13. Riboxom có thể phân bố tự do trong tế bào chất.
14. Ty thể và lục lạp có riboxom.
15. Các protein tiết được tổng hợp trên riboxom của mạng lưới nội chất có hạt.
16. Riboxom của vi khuẩn và tế bào động vật là hoàn toàn giống nhau về kích thước và thành phần rARN.
17. Trong riboxom có chứa ADN và không chứa protein.
18. Trên riboxom của *E.coli* có thể tổng hợp protein của bò.
19. Riboxom có nguồn gốc từ hạch nhân.
20. Riboxom được tổng hợp trong hạch nhân.
21. Các rARN được tổng hợp trong hạch nhân trừ loại ARN 5S.
22. Hemoglobin được tổng hợp trong huyết tương.
23. Trong tế bào gan, hemoglobin được tổng hợp trên riboxom.
24. Trên riboxom, globin được tổng hợp trên khuôn mARN mã hoá cho globin.
25. *E. coli* có thể golgi.
26. Trong tế bào gan thể golgi có trong tế bào chất.
27. Thể golgi có cấu tạo màng lipoprotein ở dạng các túi dẹt và bóng.
28. Trên thể golgi có đính riboxom.
29. Thể golgi có vai trò đóng gói và chế tiết các sản phẩm protein, glicoprotein.
30. Lizoxom có nhiều trong tế bào thực bào.
31. Trong lizoxom chứa enzim thuỷ phân.
32. Trong màng lizoxom có chứa bơm proton.
33. Độ pH trong lizoxom là 7.

34. Protein không bị phân giải trong lizoxom.
35. Lizoxom cấp hai là lizoxom đã liên kết với bóng thực bào.
36. Lizoxom có vai trò tiêu hoá nội bào và tự tiêu.
37. Tế bào không bị phân huỷ (tự tiêu) khi các enzim trong lizoxom được giải phóng ra ngoài.
38. Bệnh viêm phổi của thợ than có liên quan đến lizoxom.
39. Peroxixom có chứa các enzim oxy hoá.
40. Enzim catalaza không có trong peroxixom.
41. Trong peroxixom của người có chứa các ureaza.
42. *E.coli* có nhiều peroxixom trong tế bào chất.
43. Tế bào gan có nhiều glioxixom.
44. Glioxixom ở tế bào thực vật có vai trò trong chu trình glioxilat.
45. Quá trình glioxilat biến lipit thành gluxit.
46. Các bóng nội bào (endoxom) có vai trò vận tải các chất.
47. Tế bào sử dụng năng lượng thông qua ATP.
48. Ty thể sản xuất ATP khi có oxy.
49. Quá trình đường phân kỵ khí diễn ra trong ty thể.
50. Ty thể được cấu tạo từ một lớp màng.
51. Màng ngoài và màng trong của ty thể có cấu tạo và chức năng khác nhau.
52. Chu trình Crep xảy ra ở màng mào răng lược.
53. Dãy chuyền điện tử định khu trong chất nền ty thể.
54. Các enzim của chu trình Crep định khu trong màng ty thể.
55. Phức hệ F_0-F_1 (ATP synthetase) định khu trong màng trong.
56. Sự tổng hợp ATP xảy ra trong chất nền ty thể.
57. Phức hệ F_0-F_1 tổng hợp ATP nhờ năng lượng gradien proton.
58. NAD, FAD, và các cytochrome là các chất chuyền điện tử.
59. Oxy là chất nhận điện tử cuối cùng và liên kết với proton để tạo thành H_2O.
60. Ty thể có chứa ADN trần dạng vòng.
61. Riboxom của ty thể không giống riboxom của tế bào.
62. Ty thể không thể tổng hợp được protein vì không có mARN.
63. Cơ chế tổng hợp protein trong ty thể không giống vi khuẩn.
64. Các nhà pháp y sử dụng ADN ty thể để làm dấu vân ADN.

65. Ty thể được đổi mới nhờ tính tự sản sinh (phân đôi hoặc nảy chồi).
66. Ty thể hoạt động một thời gian rồi được thay thế.
67. Ty thể có nguồn gốc cộng sinh từ vi khuẩn hiếu khí.
68. Mã di truyền của ty thể hoàn toàn giống mã di truyền của tế bào.
69. Tế bào thực vật không có ty thể.
70. Tinh trùng người có hàng nghìn ty thể.
71. Tế bào gan chỉ có một ty thể độc nhất.
72. Tế bào thực vật và tảo có chứa lục lạp.
73. Bạch lạp là nơi tổng hợp và tích luỹ tinh bột.
74. Trong lục lạp có chứa chlorophyl a và b.
75. Hệ quang hợp I và II chứa trong chất nền lục lạp.
76. Trong màng tylacoid chứa các enzim của chu trình Calvin.
77. Phức hệ ATP synthetaza của lục lạp và ty thể giống nhau.
78. Dãy chuyền điện tử chứa trong màng tylacoid.
79. Oxy do quang hợp thải ra là oxy từ không khí.
80. ADN lục lạp và ADN ty thể là nhân tố di truyền tế bào chất.
81. Lục lạp có nguồn gốc cộng sinh từ vi khuẩn hiếu khí.
82. Bộ khung xương của tế bào được cấu tạo gồm vi sợi và vi ống.
83. Vi sợi và vi ống được cấu tạo từ chất xương như xương chó.
84. Vi sợi là các sợi 5-15nm được cấu tạo từ các protein như actin, miozin v.v...
85. Vi sợi actin có kích thước lớn hơn vi sợi trung gian.
86. Vi sợi trung gian có kích thước 10-15nm và được cấu tạo từ nhiều loại protein khác nhau.
87. Tấm lamina của màng nhân được cấu tạo từ keratin.
88. Phân tử myozin có hoạt tính enzim ATP aza.
89. Vi sợi trung gian tạo nên tơ cơ.
90. Tơ cơ được cấu tạo từ vi sợi actin và vi sợi myozin và khi cơ co rút cần tiêu phí năng lượng ATP.
91. Trạng thái sol - gel của tế bào chất do tính chất giải trùng hợp và trùng hợp của actin quy định.
92. Vi ống có cấu tạo ống với kích thước 25nm và được cấu tạo gồm protein tubulin.
93. Thoi phân bào được cấu tạo gồm các sợi có cấu tạo vi ống và khi vi

ống giải trùng hợp tạo lực vận chuyển các nhiễm sắc tử về 2 cực tế bào.

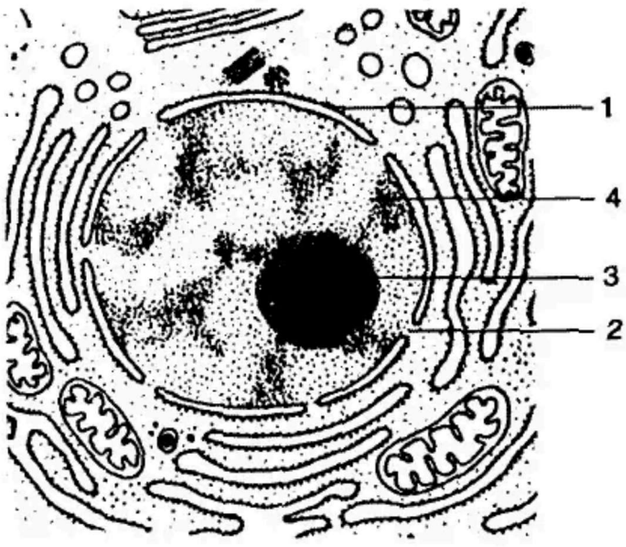
94. Trung tử không có ở các tế bào động vật.
95. Trung tử tạo nên thể nền, thể nền tái sinh lông và roi.
96. Trung tử có cấu tạo vi sợi actin theo kiểu 9+2.
97. Lông và roi cấu tạo từ vi ống theo kiểu 9+2.
98. Vi khuẩn có lông và roi theo kiểu 9+2.
99. Tế bào biểu mô có nhiều lông theo kiểu 9+2 như *Paramecium*.
100. Đuôi tinh trùng là roi theo kiểu 9+2 như roi *Euglera*.
101. Hạt phấn có roi để vận động khi thụ phấn.
102. Khi thụ phấn với trứng, tinh trùng dùng roi để xuyên qua tế bào trứng.

Chương V

NHÂN TẾ BÀO

I- CẤU TRÚC NHÂN GIAN KỲ

Nhân (nucleus) được Brawn phát hiện vào năm 1831 và được xem là thành phần bắt buộc của tất cả tế bào động vật cũng như thực vật. Ở các tế bào Procaryota (vi khuẩn) người ta không quan sát thấy nhân. Tuy nhiên hiện nay với những phương pháp nghiên cứu sinh hóa, hiển vi điện tử và di truyền vi sinh vật đã chứng minh rằng trong các tế bào Procaryota (vi khuẩn và vi khuẩn lam) tồn tại phân tử ADN (axit deoxyribonucleic) nằm trong vùng "thể nhân" có cùng chức năng tương tự như nhân của Eucaryota, vì vậy thể nhân ở vi khuẩn có tên gọi là nucleoid. Như vậy ta có thể xem sự tiến hóa từ dạng ADN trần phân tán trong tế bào chất ở dạng nucleoid (Procaryota) sang dạng ADN liên kết với histon thành các nhiễm sắc thể định khu, tách biệt bởi màng nhân ở dạng nhân (nucleus) ở Eucaryota (hình 5.1) là sự tiến hóa của bộ máy di truyền của sinh giới.



Hình 5.1. *Các thành phần cấu trúc của nhân*
1. Màng nhân; 2. Lỗ màng nhân; 3. Hạch nhân; 4. Chất nhiễm sắc

Khi nói đến chức năng sinh lý của nhân trong tế bào, ta thấy nhân có 2 vai trò chủ yếu:

– *Chức năng di truyền và ảnh hưởng của nhân trong sự phát triển của tế bào.*

– Chức năng trao đổi chất trong tế bào.

Tất nhiên khi ta xét chức năng của nhân trong tế bào ta phải để ý đến mối liên quan mật thiết giữa nhân và tế bào chất. Trong quá trình tiến hóa lịch sử, nhân và tế bào chất đã hình thành nên một hệ thống có liên quan mật thiết với nhau và nhân cũng như tế bào chất đều không thể tồn tại độc lập trong một thời gian dài được. (Ví dụ: tinh trùng thiếu tế bào chất và hồng cầu động vật có vú thiếu nhân sẽ bị chết trong thời gian ngắn).

Trong đời sống của tế bào có thể chia làm 2 thời kỳ:

1) Thời kỳ trao đổi chất (gian kỳ).

2) *Thời kỳ phân chia nhân (kỳ phân bào).*

Ở mỗi một thời kỳ, nhân đều có cấu trúc đặc trưng. Ở thời kỳ trao đổi chất, nhân ở trạng thái không phân chia. Ở thời kỳ phân chia, nhân thay đổi để tiến tới sự phân chia nhân và phân chia tế bào. Trong phần này ta sẽ xét cấu trúc của nhân ở thời kỳ không phân chia mà ta thường gọi là nhân ở "gian kỳ" (interphase), nghĩa là *thời gian giữa 2 kỳ phân chia. Trong trạng thái không phân chia,* nhân thực hiện chức năng trao đổi chất - thể hiện các quá trình sinh sống trong tế bào, chuẩn bị cho sự phân chia và sinh sản của tế bào.

1.1. Hình thái nhân gian kỳ

a) Số lượng: Phần lớn tế bào đều có 1 nhân. Cũng có nhiều trường hợp trong tế bào có đến 2 hoặc 3 nhân (ví dụ, *Paramecium* có 2 nhân: 1 nhân lớn và 1 nhân bé, hoặc 1 số tế bào gan, tế bào tuyến nước bọt của động vật có vú có 2-3 nhân. Có những tế bào đa nhân có khi đến hàng chục (ví dụ tế bào đa nhân megacaryocyte - trong tủy xương).

Trong trường hợp bệnh lý, người ta cũng thường quan sát thấy hiện tượng gia tăng số lượng nhân trong tế bào. Trong cơ thể động vật có những tế bào không có nhân như hồng cầu động vật có vú, nhưng đó là những tế bào đã được phân hóa để làm chức năng trao đổi khí, những tế bào như thế mất khả năng phân chia (hồng cầu không nhân có nguồn gốc từ những hồng bào có nhân).

b) Hình dạng: Hình dạng của nhân phần lớn tùy thuộc vào hình dạng của tế bào. Trong các tế bào hình cầu, hình khối v.v... nhân thường có dạng hình cầu (trong tế bào limpho, tế bào nhu mô gan, tế bào nơron đa cực). Trong các tế bào hình trụ, hoặc lăng trụ, hoặc hình kéo dài theo một trục thì nhân có dạng kéo dài hình bầu dục (tế bào cơ, tế bào biểu mô). Tuy nhiên trong nhiều tế bào, nhân có hình dạng rất phức tạp. Ví dụ, bạch cầu có hạt thường có nhân phân thùy. Hình dạng của nhân có thể thay đổi tùy trạng thái chức năng của tế bào, ví dụ, sự thay đổi hình dạng của nhân trong tế bào tiết phản ánh tính tích cực của chức năng tiết, nhân phân thùy phức tạp của bạch cầu có hạt là để làm tăng bề mặt tiếp xúc của nhân với tế bào chất.

c) Kích thước: Kích thước của nhân cũng thay đổi tuỳ loại tế bào, và ngay cả ở những tế bào cùng một loại, thay đổi tuỳ trạng thái chức năng của tế bào. Nhưng nói chung kích thước của nhân có liên quan đến kích thước của tế bào chất. Tỷ lệ giữa nhân và tế bào chất có thể biểu hiện bằng chỉ số sau đây:

$$NP = \frac{Vn}{Vc - Vn}$$

NP: chỉ số nhân - tế bào chất
Vn: thể tích nhân
Vc: thể tích tế bào

Chỉ số trên nói lên mối quan hệ phụ thuộc giữa thể tích nhân và thể tích tế bào chất. Khi thể tích tế bào chất tăng thì thể tích của nhân cũng tăng. Khi cân bằng đó bị phá vỡ thì chính là một trong các nguyên nhân kích thích sự phân chia tế bào. Vấn đề mối liên quan giữa nhân và tế bào chất trong sự sinh trưởng và phân chia tế bào ta sẽ xét kỹ trong các phần sau.

1.2. Định khu của nhân trong tế bào

Vị trí của nhân cũng thay đổi tuỳ trạng thái của tế bào, nhưng nói chung đặc trưng cho từng loại tế bào. Trong các tế bào của phôi, nhân thường nằm ở trung tâm. Trong các tế bào đã biệt hóa, nhân thay đổi vị trí tuỳ theo sự hình thành các sản phẩm, các chất dự trữ trong tế bào chất. Ví dụ, trong các tế bào mỡ, trong các tế bào trứng giàu noãn hoàng, tế bào thực vật có không bào trung tâm, nhân thường nằm ở ngoại vi. Trong các tế bào tuyến tiết, nhân thường nằm ở phần nền, còn phần ngọn của tế bào là các hạt tiết. Tuy nhiên trong tế bào đã biệt hóa, nhân ở vị trí nào cũng đều được bao bởi tế bào chất.

1.3. Cấu trúc nhân trong tế bào sống và trong tế bào tiêu bản

– Trong đa số tế bào sống, nhân có đặc tính đồng nhất quang học. Người ta chỉ phân biệt được màng nhân, chứa bên trong các thể hình cầu (một hoặc vài thể) có tính chiết quang mạnh - hạch nhân. Trong một số tế bào khác, ngoài hạch nhân ra còn có thể quan sát được các thể dạng hạt, hoặc dạng búi kích thước khác nhau nằm trong chất dịch nhân vô dạng. Ngoài ra, ở một số tế bào trong "gian kỳ" có thể quan sát thấy nhiễm sắc thể. Như vậy đối với nhân của tế bào sống ta có thể quan sát thấy ở các mức độ cấu trúc, từ tính đồng nhất quang học đến nhiễm sắc thể.

– Trong tế bào tiêu bản (tế bào đã nhuộm màu) nhân có cấu trúc rất phức tạp. Cấu trúc hiển vi của nhân tuỳ thuộc rất nhiều vào phương pháp định hình và phương pháp nhuộm màu, nhưng nói chung đối với nhân của tế bào nhuộm màu ta có thể phân biệt được các cấu trúc sau (hình 5.1).

1) Màng nhân (nucleolemma) phân cách rõ giới hạn nhân và tế bào chất.

2) Hạch nhân hay nhân con (nucleolus) là các thể hình cầu có đặc tính nhuộm màu kiềm - đặc tính đó là sự tập trung cao ở hạch nhân chất ribonucleoprotein.

3) Chất nhiễm sắc (chromatine) là những cấu trúc hạt, sợi hoặc búi rất mảnh được đặc trưng bởi chất deoxyribonucleoprotein.

4) Dịch nhân (caryolimph) là chất không nhuộm màu hoặc bắt màu hơi axit.

Nghiên cứu nhân tế bào dưới kính hiển vi điện tử cũng quan sát thấy các cấu thành như màng nhân, hạch nhân, chất nhiễm sắc và dịch nhân. Tất nhiên cấu trúc siêu hiển vi của các cấu trúc nhân kể cả dịch nhân đều có cấu tạo rất đặc trưng và phức tạp mà ta sẽ xét tới sau này.

1.4. Tính chất lý, hóa của nhân

Tính chất lý, hóa của nhân và của tế bào chất rất khác nhau.

Độ nhớt của nhân thay đổi tuỳ tế bào của các loại mô khác nhau, và tùy trạng thái sinh lý của tế bào. Trong nhiều trường hợp, độ nhớt của chất chứa trong nhân gần với độ nhớt của nước. Ở một số tế bào khác, ví dụ, ở một số động vật đơn bào, nhân có độ nhớt cao. Nói

chung độ nhớt của nhân kém hơn độ nhớt của tế bào chất nhưng đối với một số tế bào trứng thì ngược lại. Trong nhân thì hạch nhân có cấu trúc đậm đặc nhất. Thường thường người ta cho rằng, độ nhớt của các cấu trúc tế bào phụ thuộc vào sự phân bố nước và sự phân bố này có thể thay đổi tuỳ hoạt động của tế bào. Độ nhớt và độ chắc của nhân cũng như tế bào chất tùy thuộc vào sự thay đổi ngược chiều sol-gel đặc trưng cho tế bào sống. Khối lượng riêng của nhân nói chung lớn hơn khối lượng riêng của tế bào chất. Tuy nhiên trong một số tế bào, ví dụ, tế bào trứng động vật da gai, nhân nhẹ hơn tế bào chất. Trong các cấu trúc của nhân thì hạch nhân có khối lượng riêng lớn nhất, rồi đến chất nhiễm sắc và bé nhất là dịch nhân. Khối lượng riêng của tế bào và các cấu trúc của tế bào thay đổi tùy thuộc vào trạng thái sinh lý và lượng nước chứa trong đó. Phản ứng của nhân hơi kiềm (độ pH = 7,4 - 7,8), trong lúc đó phản ứng của tế bào chất hơi axit (độ pH = 6,6 - 6,8).

II- MÀNG NHÂN

2.1. Cấu trúc siêu vi của màng nhân

– Khi quan sát tế bào sống và tế bào đã nhuộm màu ta thấy rõ nhân được phân biệt với tế bào chất bởi màng nhân. Màng nhân không chỉ đơn giản phân tách nhân với tế bào chất mà qua màng nhân có sự trao đổi chất giữa nhân và tế bào chất. Mối tương quan giữa nhân và tế bào chất phần lớn phụ thuộc vào hoạt tính của màng nhân. Về tính chất thì màng nhân khác biệt với màng sinh chất, ví dụ, màng nhân khi bị phá hủy không có khả năng hàn gắn lại. Màng nhân bị chọc thủng sẽ làm cho nhân chết và toàn bộ tế bào sẽ chết. Tính không hàn gắn lại được của màng nhân có thể giải thích bằng tính tích điện dương của nó. Trái lại màng sinh chất có tính tích điện âm và khi một phần của màng bị hủy hoại thì màng có thể được hàn gắn lại. Quá trình này được thực hiện chỉ với sự có mặt của ion Ca^{2+}. Màng nhân không thể hàn gắn lại được, có thể là do tính chất cùng tích điện dương giống như ion Ca^{2+}. Về tính chất thẩm thấu màng nhân cũng khác biệt với màng sinh chất. Phân tử ribonucleaza (protein với khối lượng phân tử 13.000Da) dễ dàng thấm qua màng nhân, các protein kiềm như protamin, histon, protein có khối lượng phân tử 10.000 - 20.000Da cũng dễ dàng thấm qua màng nhân. Các

muối, axit amin, các nucleotit cũng thấm được vào nhân. Tuy nhiên trong lúc đó thì một số protein chỉ có thể thấm vào tế bào qua màng sinh chất mà không thấm vào nhân được.

– Về thành phần hóa học thì màng nhân cũng có cấu trúc màng lipoprotein như màng sinh chất nhưng khác biệt ở nhiều điểm.

Màng nhân gồm 2 lớp màng: màng ngoài và màng trong. Màng hướng về nhân gọi là màng trong, còn màng hướng về tế bào chất gọi là màng ngoài. Xoang giới hạn bởi 2 màng này gọi là xoang quanh nhân.

Trong đa số trường hợp, màng nhân có độ dày chừng 40nm, độ dày của mỗi màng trong và ngoài gần 10nm, của xoang 10-20nm. Như vậy ta có thể xem màng nhân là một phần của hệ thống màng nội bào. Các phần màng ngoài của màng nhân có thể nối với mạng lưới nội chất bởi các khe bể chứa và hình thành một hệ thống khe thông với nhau, và trong một số trường hợp hệ thống khe này có thể mở ra trong khoảng gian bào, và như vậy qua hệ thống khe của tế bào chất có sự liên hệ trực tiếp giữa xoang quanh nhân và môi trường ngoại tế bào (ví dụ ở các tế bào đại thực bào, tế bào ống thận, một số tế bào thực vật). Trong một số trường hợp, dưới kính hiển vi thường có thể trông thấy khe quanh nhân thông với môi trường ngoài tế bào, ví dụ ở tế bào tuyến lớn của một số bọn nhuyễn thể. Thường thì các chất từ ngoài thấm vào nhân phải qua tế bào chất, tuy nhiên ở các tế bào mà hệ thống màng phát triển có thể có sự xâm nhập thẳng của các chất từ môi trường ngoài tế bào vào nhân không thông qua tế bào chất.

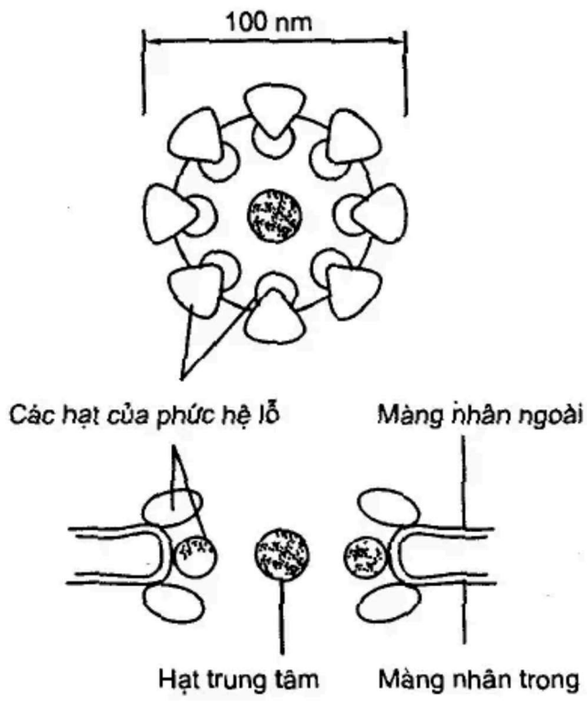
Tuy rằng ta có thể xem màng nhân như là một phần của hệ thống mạng lưới nội chất, nhưng đồng thời do chức năng đặc biệt của nó nên cấu trúc hình thái có nhiều điểm khác biệt với các loại màng khác - đó là cấu trúc không liên tục của màng nhân vì chứa hệ thống lỗ.

2.2. Lỗ của màng nhân

Màng nhân có cấu trúc không liên tục, trên màng nhân có phân bố nhiều lỗ-các lỗ hình trụ đó làm thông nhân với tế bào chất, nhưng chứa đầy chất có tỷ trọng khác hẳn chất nhân và chất của tế bào chất.

Các lỗ phân bố trên mặt màng nhân tương đối đồng đều với khoảng cách từ 50-100nm. Như vậy trên $1\mu m^2$ bề mặt nhân có chừng 25-100 lỗ. Lỗ có dạng hình phễu, đường kính mặt trong và ngoài khác nhau và

có kích thước khá cố định ở các tế bào khác nhau và đo được gần 50 và 100nm. Trong các tế bào ở các loài động vật khác nhau như có vú, chim, bò sát, ếch nhái, cá, da gai, sâu bọ, giun, nhuyễn thể, động vật đơn bào, cũng như tế bào tảo, thực vật, nấm, ở màng nhân đều có lỗ. Lỗ màng nhân không phải là lỗ đơn giản rỗng mà có cấu trúc phức tạp (hình 5.2).



Hình 5.2. *Cấu trúc siêu vi của lỗ màng nhân*

Lỗ được cấu tạo từ một vòng nhẫn giới hạn lỗ. Phía trong vòng nhẫn có 8 mảnh chấn sáng nhô vào lòng ống giới hạn một khe trung tâm hẹp khoảng 10nm. Cách cấu trúc phức tạp của lỗ cho phép lỗ điều chỉnh kích thước và điều chỉnh sự vận chuyển các chất qua lỗ, kể cả các cấu trúc như riboxom.

2.3. Chức năng của màng nhân

Màng nhân có chức năng phân lập cách ly nhiễm sắc thể khỏi tế bào chất, thời kỳ phân bào, màng nhân biến mất tạo điều kiện cho các nhiễm sắc thể di chuyển về 2 cực. Màng nhân thực hiện chức năng trao đổi chất giữa nhân với tế bào chất. Sự vận chuyển chất có thể thông qua cơ chế hoạt tải qua màng lipoprotein hoặc thông qua hệ thống lỗ của màng nhân.

Lỗ có cấu trúc phức tạp cho nên lỗ màng nhân không giống như một cái lỗ đơn giản, các chất được vận chuyển qua lỗ là do kết quả hoạt động tích cực của các chất chứa trong lỗ. Và có thể nói lỗ với màng nhân đã tham gia tích cực và chọn lọc vào quá trình trao đổi chất giữa nhân và tế bào chất. Phân tử mARN, nhiều protein và cả riboxom đều được vận chuyển nhờ lỗ. Màng nhân còn tham gia vào chức năng tổng hợp và chuyên chở các chất.

Ở mặt ngoài của màng ngoài của nhân có đính nhiều riboxom, do

đó màng nhân tham gia tích cực vào việc tổng hợp protein. Lỗ của màng nhân, ngoài chức năng trao đổi chất giữa nhân và tế bào chất, còn thực hiện chức năng nâng đỡ. Hệ thống lỗ có thể xem như một hệ thống cột để cố định màng nhân không cho màng thay đổi, để bảo đảm sự tồn tại của xoang quanh nhân, xoang này có ý nghĩa đặc biệt trong việc tổng hợp protein đối với các tế bào có mạng lưới nội chất kém phát triển. Nằm sát mặt trong của màng trong có hệ thống tấm lamina có chiều dày từ 15 - 60nm, tấm lamina được cấu tạo từ các vi sợi trung gian đan chéo vào nhau như một tấm rây. Các vi sợi này có cấu tạo từ protein-lamin. Tấm lamina có vai trò cơ học, giữ cho màng nhân ổn định. Chất nhiễm sắc dính vào màng nhân thông qua tấm lamina. Điều đó thể hiện rõ ở tính tương đối cố định của màng nhân trong gian kỳ. Vào cuối tiền kỳ của phân bào, màng nhân biến mất và bị chia nhỏ thành các bóng không bào bé, đến cuối mạt kỳ màng nhân được tái sinh lại từ các bóng không bào và từ mạng lưới nội sinh chất. Tấm lamina bị giải trùng hợp thành các đơn hợp lamin ở tiền kỳ, sẽ được tái trùng hợp để tạo thành tấm lamina ở mạt kỳ. Màng nhân không phải là giới hạn thụ động giữa nhân và tế bào chất mà là một cấu thành tham gia tích cực quá trình trao đổi chất và chuyên chở chất giữa nhân và tế bào chất. Tuy nhiên do chức năng làm giới hạn giữa nhân và tế bào chất nên màng nhân có cấu trúc chi tiết khác biệt với các loại màng tế bào khác.

III- CHẤT NHIỄM SẮC (chromatine) VÀ NHIỄM SẮC THỂ (chromosome)

Trong dịch nhân, ADN liên kết với protein (protein kiềm - histon và các protein axit) ở dạng sợi mảnh xoắn với nhau tạo thành chất nhiễm sắc.

Có tên gọi là chất nhiễm sắc vì khi nhuộm tế bào ở giai đoạn gian kỳ bằng thuốc màu kiềm, chúng xuất hiện dưới kính hiển vi ở dạng các hạt bé, các sợi mảnh bắt màu phân bố khắp dịch nhân. Bước vào tiền kỳ của phân bào, chất nhiễm sắc bị biến đổi, chúng xoắn và co ngắn lại, tách ra thành các thể có kích thước từ vài micron đến chục micron, được gọi là nhiễm sắc thể (chromosome), ví dụ, trong mỗi tế bào người có 46 nhiễm sắc thể.

Như vậy chất nhiễm sắc và nhiễm sắc thể chỉ khác biệt nhau về cấu trúc vật lý và trạng thái hoạt động, còn chúng giống nhau về phương diện hoá sinh và cấu thành phân tử.

Chất nhiễm sắc (cũng như nhiễm sắc thể) được cấu tạo từ protein (60%) và ADN (40%). Trong đó ADN là vật chất mang thông tin di truyền, còn protein có vai trò bảo vệ và điều chỉnh.

ADN trong 46 nhiễm sắc thể của người chứa đến 6.10^9 cặp nucleotit, nếu kéo thẳng ra chúng dài gần 2 mét, trong lúc đó kích thước của nhân chỉ có 5μm, như vậy chuỗi ADN phải đóng gói làm sao để nằm gọn trong nhân mà vẫn có thể hoạt động chính xác theo thời gian và không gian hạn hẹp.

3.1. Kỹ thuật nghiên cứu nhiễm sắc thể. Kiểu nhân

Nhiễm sắc thể được phát hiện rất sớm nhờ nghiên cứu hiện tượng phân bào có tơ (Hertwig, 1875; Flemming, 1880, 1882; Van Beneden, 1883). Từ 1883, Roux đã đưa ra ý kiến là nhiễm sắc thể tham gia vào hiện tượng di truyền và đến năm 1887, Weisman đã đề xuất học thuyết nhiễm sắc thể về di truyền.

Có thể nói hơn 100 năm qua chưa có một cấu trúc sinh học nào như nhiễm sắc thể lại được tập trung nhiều phòng thí nghiệm, nhiều nhà nghiên cứu, nhiều phương tiện kỹ thuật và kinh phí để nghiên cứu nhằm mục đích làm sáng tỏ cấu trúc phân tử, cấu trúc siêu vi cũng như cơ chế hoạt động của chúng trong tế bào.

Thường thường người ta sử dụng các tế bào, mô đang phân bào *invivo*, cũng như *invitro*, ở trung kỳ là giai đoạn thể hiện rõ nhất cấu trúc hình thái của nhiễm sắc thể với mục đích nghiên cứu kiểu nhân của một cơ thể nào đấy.

Ví dụ ở người, các nhà nghiên cứu sử dụng các sợi bào (flbroblast) hoặc tế bào limpho (limphocyt) trong nuôi cấy *invitro*, trong môi trường dinh dưỡng có thêm chất kích thích chuyển hóa là PHA (Phytohemoglutinin). Người ta làm đồng thời hóa sự phân bào của cả chủng quần và dùng chất colchicin để ách trung kỳ lại. Các tế bào nuôi cấy được ly tâm, cố định bằng dung dịch Carnoy và được xử lý bằng sốc nhược trương với mục đích giải phóng và phân tán các thể nhiễm sắc của trung kỳ, định vị trong một mặt phẳng nhất định và được nhuộm màu bình thường, nhuộm màu huỳnh quang, hoặc nhuộm màu cắt băng và quan sát dưới kính hiển vi. Bức ảnh của bộ nhiễm sắc thể phân tán trong một mặt phẳng nhất định chụp ảnh được, và sau đó được sắp xếp theo một thứ tự nhất định để quan sát, nghiên cứu được gọi là *kiểu nhân* (caryotyp) (hình 5.3).

Kiểu nhân của tế bào sẽ cho ta biết được hình dạng, kích thước và số lượng của các nhiễm sắc thể cần nghiên cứu. Sử dụng biểu đồ kiểu nhân có tầm quan trọng trong nghiên cứu di truyền tế bào, trong y học lâm sàng chẩn đoán bệnh di truyền, bệnh ung thư, trong phân loại học cũng như trong công tác chọn giống cây trồng và vật nuôi.

Để nghiên cứu cấu trúc phân tử và siêu hiển vi của nhiễm sắc thể, người ta phải sử dụng kỹ thuật hiển vi điện tử và các kỹ thuật lý hóa phức tạp khác nhau của sinh hóa học và sinh học phân tử.

Ngày nay người ta thường dùng thuật ngữ nhiễm sắc thể để chỉ cơ cấu di truyền (ADN và ARN) của bất kỳ cơ thể nào, kể cả virut, vi khuẩn, thực vật, động vật và con người. Ở đây chúng ta nghiên cứu nhiễm sắc thể của tế bào nhân chuẩn.

3.2. Hình thái nhiễm sắc thể

a) Kích thước nhiễm sắc thể

Nhiễm sắc của tế bào nhân chuẩn quan sát được ở trung kỳ nguyên phân thường có dạng hình chấm hoặc hình que và thường có kích thước vào khoảng 0,2μm đến 3μm đường kính và 0,2μm đến 50μm chiều dài. Ví dụ, nhiễm sắc thể ở người, cái bé nhất là nhiễm sắc thể số 21 và 22 có kích thước L = 1,5μm; còn chiếc lớn nhất là nhiễm sắc thể số 1 có L = 10μm. Về kích thước của nhiễm sắc thể nói chung, mang tính đặc trưng cho các tế bào và cá thể của cùng một loài. Tuy nhiên, có trường hợp trong các mô khác nhau của cùng một cơ thể có sự biến đổi về hình dạng và kích thước nhiễm sắc thể để thích nghi với chức năng của một giai đoạn phát triển. Ví dụ, trong tế bào của mô tuyến nước bọt ấu trùng bọn 2 cánh như ruồi quả (*Drosophila*), người ta quan sát thấy các nhiễm sắc thể khổng lồ (còn được gọi là thể nhiễm sắc đa sợi) có kích thước đạt tới L = 300μm và D = 20μm, nghĩa là lớn gấp hàng chục lần so với nhiễm sắc thể bình thường có ở các mô khác của cơ thể ruồi (hình 5.7).

b) Số lượng nhiễm sắc thể

Về số lượng nhiễm sắc thể thì đó là một chỉ tiêu đặc trưng cho loài và bộ nhiễm sắc thể. Theo quy luật chung, mỗi một cá thể trong cùng một loài có số lượng nhiễm sắc thể đặc trưng cho loài đó. Ví dụ:

Người (*Homo sapiens*): 2n = 46

Khỉ Gori (*Gorilla gorila*): 2n = 48

Khỉ Maca (*Macaca rhezus*): 2n = 42

Bò rừng (*Bos taurus*): 2n = 60
Chó (*Canis familiaris*): 2n = 78
Mèo (*Felis domesticus*): 2n = 38
Ngựa (*Equus calibus*): 2n = 64
Chuột nhắt (*Mus musculus*): 2n = 40
Chuột cống (*Rattus norvegicus*): 2n = 42
Thỏ (*Oryctolagus cuniculus*): 2n = 44
Gà (*Gallus domesticus*): 2n = 78
Cá sấu (*Alligator mississipiensis*): 2n = 32
Ếch (*Rana pipiens*): 2n = 26
Cá chép (*Cyprinus carpio*): 2n = 104
Tằm dâu (*Bombyx mori*): 2n = 56
Ruồi nhà (*Musca domestica*): 2n = 12
Ruồi quả (*Drosophila melanogaster*): 2n = 8
Đỉa phiến (*Planaria torva*): 2n = 16
Thủy tức (*Hydra vulgaris*): 2n = 32
Giun tròn (*Caenorhabditis elegens*): 2n = 11(đực), 12(cái).
Thuốc lá (*Nicotiana tabacum*): 2n = 48
Khoai tây (*Solanum tuberosum*): 2n = 48
Hành (*Allium cepa*): 2n = 16
Cà chua (*Lycopersicum solanum*): 2n = 24
Lúa mì mềm (*Triticum vulgare*): 2n = 42
Đậu (*Pisum sativum*): 2n = 14
Ngô (*Zea mays*): 2n = 20
Tảo lục (*Acetabularia mediteranea*): 2n = 20
Nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*): 2n = 36

Tuy nhiên ta không thể máy móc dựa vào số lượng nhiễm sắc thể để đánh giá mức độ tiến hoá của các loài, vì lẽ rằng, các cơ thể ở mức độ tiến hoá cao nhất lại có số lượng nhiễm sắc thể ít hơn (ví dụ: người có 46 nhiễm sắc thể, trong khi đó số lượng nhiễm sắc thể ở khỉ Gori là 48 và gà có đến 78 nhiễm sắc thể), cũng giống như hàm lượng ADN, tuy có tính ổn định loài nhưng chưa thể hiện tính logic của bậc thang tiến hoá. Vấn đề là cần phải xem xét mức độ tổ chức và hoạt động của hệ gen trong ADN và trong nhiễm sắc thể.

Số lượng nhiễm sắc thể còn đặc trưng cho bộ nhiễm sắc thể. Người ta phân biệt:

– Bộ đơn bội (haploid) ký hiệu là n, đặc trưng cho các tế bào, cơ thể đơn bội cũng như các tế bào sinh dục chín (các giao tử) ở cơ thể sinh sản hữu tính. Ví dụ, ở người, tinh trùng và tế bào trứng có n = 23 nhiễm sắc thể.

– Bộ lưỡng bội (diploid) ký hiệu 2n, đặc trưng cho các tế bào và cơ thể lưỡng bội. Trong cơ thể sinh sản hữu tính, các tế bào soma có chứa 2n nhiễm sắc thể. Ví dụ, ở người 2n = 46, là tập hợp 23 nhiễm sắc thể của tinh trùng và 23 nhiễm sắc thể của tế bào trứng sau khi thụ tinh tạo thành hợp tử có 2n = 46.

Như vậy trong cơ thể lưỡng bội, nhiễm sắc thể tồn tại thành từng cặp (một từ bố và một từ mẹ) được gọi là *cặp nhiễm sắc thể tương đồng*, cặp được hình thành từ lúc thụ tinh (2n) và phân ly lúc phân bào giảm nhiễm (n).

– Bộ đa bội (polyploid), đặc trưng cho tế bào và cơ thể đa bội. Số nhiễm sắc thể được tăng lên theo bội số của n. Ví dụ, tam bội 3n (triploid), tứ bội 4n (tetraploid).

Nhiều trường hợp các loài trong một chi (genus) có số nhiễm sắc thể tạo thành dãy đa bội, và người ta phân biệt số đơn bội khởi nguyên là x, từ đó hình thành các dạng đa bội.

Ví dụ: ở lúa mì (*Triticum*) có dãy đa bội là:

Triticum monococum 2n = 14 (n = 7).

Triticum dicocum 2n = 28 (n = 14).

Triticum vulgare 2n = 42 (n = 21).

Trong đó số đơn bội khởi nguyên x = 7.

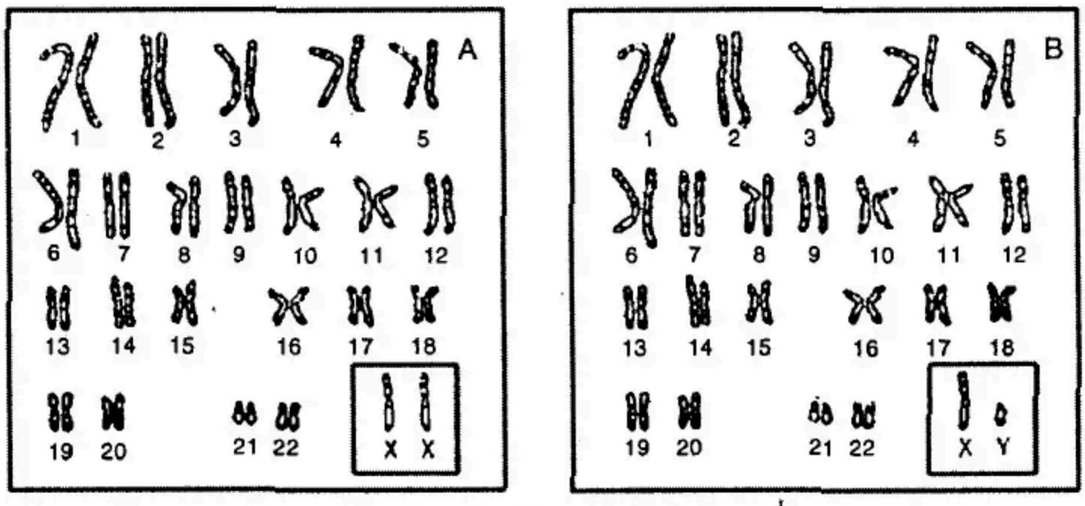
Hiện tượng đa bội thường thấy ở thực vật, còn ở động vật ít có trường hợp đa bội. Ở ếch, người ta quan sát thấy có trường hợp bát bội 8n = 104 nhiễm sắc thể. Ở động vật có vú, trường hợp đa bội quan sát thấy ở chuột đồng (*Cricetus cricetus*). Nói chung ở động vật bậc cao, tế bào hoặc mô đa bội thể hiện tình trạng bệnh lý.

Người ta quan sát thấy chu kỳ xoắn của nhiễm sắc thể thay đổi qua chu kỳ tế bào. Ở gian kỳ các sợi nhiễm sắc ở trạng thái mở xoắn ở nhiều mức độ khác nhau và tồn tại ở dạng chất nhiễm sắc. Ở tiền kỳ của mitos, các sợi nhiễm sắc trở nên xoắn hơn, do đó bị đông đặc và co ngắn lại, đến trung kỳ thấy rõ nhất và ở trạng thái xoắn tối đa (so với đầu tiền kỳ độ co ngắn gấp 2,5 lần) và đến mạt kỳ sẽ được giãn xoắn để bước vào gian kỳ của tế bào con ở trạng thái các sợi chất

nhiễm sắc mở xoắn – trạng thái chất nhiễm sắc. Sự giãn xoắn hoặc xoắn lại của thể nhiễm sắc là có liên quan đến chức năng của chúng.

c) Nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính

Trong bộ lưỡng bội, các nhiễm sắc thể tồn tại thành cặp tương đồng, ví dụ, ở người có 23 cặp tương đồng, trong cặp 2 thành viên (1 nhiễm sắc thể từ bố, 1 từ mẹ) giống nhau về hình dạng, kích thước. Những cặp như thế được gọi là *nhiễm sắc thể thường* (autosome). Ngoài ra còn có 1 cặp trong đó 2 thành viên khác nhau về hình dạng, kích thước, hoặc trạng thái hoạt động được gọi là *nhiễm sắc thể giới tính* (sex chromosome). Ví dụ, ở người có 22 cặp nhiễm sắc thể thường và 1 cặp (cặp thứ 23) là nhiễm sắc thể giới tính. Ở nam giới, cặp nhiễm sắc thể giới tính là XY, còn ở nữ giới là XX (hình 5.3).



Hình 5.3. *Kiểu nhân (Caryotyp) của người*

Cặp nhiễm sắc thể giới tính là cơ sở di truyền để xác định giới tính và xác định tính di truyền liên kết giới tính ở đa số cơ thể sinh sản hữu tính.

3.3. Cơ sở nhiễm sắc thể của xác định giới tính

Đa số cơ thể đa bào sinh sản bằng phương thức hữu tính và được phân hóa giới tính đực và giới tính cái. Giới tính được biểu hiện ở các tính trạng sinh dục nguyên sinh (có tuyến sinh dục tinh hoàn, buồng trứng) và tính trạng sinh dục thứ sinh (các phần phụ sinh dục và tính trạng khác của cơ thể phân biệt đực cái). Những tính trạng này được quy định bởi nhân tố di truyền và nhân tố môi trường trong cơ thể và môi trường ngoài.

– Đối với đa số cơ thể, giới tính được xác định bởi nhiễm sắc thể giới tính (sex - chromosome) thể hiện ở 3 kiểu:

+ *Kiểu đồng giao tử (XX) ở con cái và dị giao tử (XY) ở con đực* (ví dụ đa số động vật có vú, người, một số thực vật có hoa), trong đó con cái có cặp nhiễm sắc thể tương đồng giống nhau XX, còn con đực có cặp tương đồng khác nhau: một chiếc là X và một chiếc là Y. Nhiễm sắc thể X có kích thước dài hơn chứa nhiều gen hơn nhiễm sắc thể Y (ví dụ ở người nhiễm sắc thể X chứa 163 triệu cặp nucleotit với 1218 gen, trong lúc đó nhiễm sắc thể Y chỉ chứa có 53 triệu cặp nucleotit với 128 gen). Như vậy trong nhiễm sắc thể X có rất nhiều gen không có alen tương ứng so với Y, và giới tính cái được xác định bởi sự có mặt của 2 thể nhiễm sắc X, còn giới tính đực được xác định bởi sự có mặt của nhiễm sắc thể Y. Nghiên cứu nhiều trường hợp sai lệch giới tính ở người cho thấy: giới tính được xác định bởi sự có mặt hay không có nhiễm sắc thể Y. Ví dụ, trường hợp hội chứng Turner có kiểu gen X0 (một thể nhiễm sắc X và không có Y) vẫn là nữ giới, còn trong trường hợp hội chứng Clinfenter có kiểu gen XXY tuy có hai XX nhưng có Y nên vẫn là giới tính nam. Rõ ràng là nhiễm sắc thể Y có tác động trội và quyết định giới tính, thể hiện ở chỗ trong quá trình phát triển sớm của phôi, nhiễm sắc thể Y đã điều khiển sự phát triển của mầm tuyến sinh dục nguyên thủy thành tinh hoàn (tính trạng sinh dục nguyên sinh) và tinh hoàn chế tiết testosteron kích thích hình thành các tính trạng đực thứ sinh. Người ta đã chứng minh là: nhân tố xác định tinh hoàn được mã hóa bởi gen SRY (sex - determining region Y) định vị trong vế ngắn trên nhiễm sắc thể Y của người. Có rất nhiều trường hợp sai lệch giới tính thể hiện ở chỗ nam giới có kiểu gen XX và ngược lại nữ giới có kiểu gen XY. Trong trường hợp nam XX là do gen SRY đã được chuyển đoạn sang X, do đó chúng điều khiển phát triển tinh hoàn; còn trong trường hợp nữ XY là do trong Y không có gen SRY, do đó thiếu nhân tố phát triển tinh hoàn và mầm tuyến sinh dục phát triển thành buồng trứng. Nhiều nghiên cứu chứng minh rằng, gen SRY có cả trong nhiễm sắc thể Y của chuột và đã phát hiện cơ chế phân tử điều khiển phát triển giới tính từ gen SRY thông qua hệ hoocmon testosteron và thụ quan của testosteron. Đối với con đực XY bình thường, gen SRY sản sinh ra nhân tố xác định tinh hoàn (TDF - testis determining factor) kích thích vùng tủy mầm tuyến sinh dục phát triển thành tinh hoàn, tinh hoàn chế tiết testosteron kích thích phát triển tính trạng sinh dục thứ sinh ở con đực. Đối với con cái XX bình thường, vì không có Y (không có gen SRY) nên không có nhân tố TDF, vùng tủy mầm tuyến sinh dục không phát triển thành tinh hoàn mà vùng vỏ của tuyến phát triển buồng trứng, buồng trứng chế tiết hoocmon estrogen kích thích

phát triển tính trạng sinh dục thứ sinh ở con cái. Thật ra gen SRY xác định giới tính đực thông qua sự tương tác với nhiều gen khác định vị trong các nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể X. Ví dụ, các gen SOX9, gen SF1, gen AMH... trong nhiễm sắc thể thường phối hợp với gen SRY xác định giới tính đực. Người ta đã phát hiện được gen DAX1 định vị trong nhiễm sắc thể X có vai trò phối hợp với gen SRY xác định giới tính đực. Gen DAX1 mã hóa cho thụ quan của hoocmon testosteron do đó testosteron có thể được thu nhận và xâm nhập vào tế bào để hoạt hóa các gen có vai trò tạo nên các tính trạng sinh dục đực thứ sinh. Những con đực XY có gen DAX1 bị đột biến sẽ không sản sinh thụ quan, do đó testosteron không được thu nhận vào trong tế bào và cơ thể phát triển theo hướng cái hóa. Đối với con cái XX, thì gen DAX1 phối hợp với gen WNT4 (định vị trong nhiễm sắc thể thường) xác định sự phát triển của buồng trứng. Ở con đực, gen WTN4 bị ức chế, do đó gen DAX1 phối hợp với gen SRY xác định sự phát triển tinh hoàn.

Đối với ruồi quả, tuy có cặp nhiễm sắc thể giới tính là XX (con cái) và XY (con đực), nhưng cơ chế xác định giới tính khác với động vật có vú vì trong nhiễm sắc thể Y của chúng không có gen xác định giới tính SRY. Sự xác định giới tính ở ruồi quả diễn ra theo cơ chế: tỷ lệ giữa nhiễm sắc thể X với nhiễm sắc thể thường. Ruồi quả có bộ nhiễm sắc thể 2n = 8 trong đó có cặp giới tính XX (con cái) và XY (con đực) và 3 cặp nhiễm sắc thể thường được ký hiệu là AA. Tỷ lệ X/A sẽ quy định giới tính của ruồi (bảng 5.1).

Bảng 5.1. Tỷ lệ X/A và giới ở ruồi quả

NST giới (X) và NST thường (A)	Tỷ lệ X/A	Kiểu hình về giới
1X 2A	0,5	Con đực
2X 2A	1,0	Con cái
3X 2A	1,5	Siêu cái
4X 3A	1,33	Siêu cái
4X 4A	1,0	Con cái tứ bội
3X 3A	1,0	Con cái tam bội
3X 4A	0,75	Trung giới
2X 3A	0,67	Trung giới
2X 4A	0,5	Con đực tứ bội
1X 3A	0,33	Siêu đực

Qua bảng trên ta thấy rõ là đối với ruồi kể cả con đực, nhiễm sắc thể Y không gây ảnh hưởng lên kiểu hình giới tính. Tuy nhiên Y gây ảnh hưởng lên tính hữu thụ của con đực. Ngày nay người ta biết rằng gen Sxl được gọi là gen gây chết giới (Sex - lethal) định vị trong X đóng vai trò chủ yếu trong sự xác định giới tính ở ruồi quả theo cơ chế sau:

* XY/ AA, tỷ lệ X/A = 0,5: gen Sxl không hoạt động —> con đực.

* XX/ AA tỷ lệ X/A = 1,0: gen Sxl hoạt động —> con cái.

Nếu gen Sxl hoạt động ngược lại (hoạt động ở phôi đực và không hoạt động phôi cái) thì sẽ gây chết cho phôi (nên có tên gọi là gen gây chết).

Trạng thái hoạt động của gen Sxl liên kết-X (định vị trong X) liên quan chặt chẽ với sự hoạt động của các gen khác định vị trong nhiễm sắc thể thường (AA). Ví dụ, trên nhiễm sắc thể số 3 của ruồi quả có gen lặn *tra* (transformer gene), nếu ở trạng thái đồng hợp sẽ biến ruồi cái lưỡng bội thành ruồi đực bất thụ: các cá thể XX/ *tratra* có tính trạng giống con những con đực bình thường nhưng bất thụ.

+ *Kiểu đồng giao tử là con đực (ZZ) và dị giao tử là con cái (ZW)* (quan sát thấy ở các loài bướm, chim và một số loài bò sát), trong đó con đực có 2 nhiễm sắc thể tương đồng giống nhau, còn con đực có cặp tương đồng khác nhau, nhiễm sắc thể W bé hơn và không có đoạn tương đồng với Z.

+ *Kiểu xác định giới tính 2n – n (con cái: 2n, con đực: n)* quan sát thấy ở một số sâu bọ sống thành xã hội mà điển hình là ong mật. Con đực được phát triển từ trứng đơn bội không thụ tinh, có bộ nhiễm sắc thể n, còn ong thợ và ong chúa là ong cái được phát triển từ các trứng thụ tinh, có bộ nhiễm sắc thể 2n. Sự điều chỉnh tỷ lệ giới trong quần thể là do ong chúa. Ong chúa được thụ tinh bởi ong đực và tinh trùng được tích trữ trong túi chứa tinh của ong chúa. Khi ong chúa đẻ trứng, nếu trứng được thụ tinh bởi tinh trùng từ túi chứa tinh sẽ phát triển thành ong cái 2n, còn khi ong chúa đẻ trứng không được thụ tinh thì trứng đơn bội sẽ phát triển thành ong đực n. Ong chúa điều khiển sự sinh sản rất nhiều ong cái thợ tuy có bộ nhiễm sắc thể 2n nhưng bất thụ (không đẻ trứng) chỉ làm nhiệm vụ kiếm ăn, xây tổ, chăm sóc nuôi dưỡng ong chúa và ong đực; và sinh sản ít ong đực, tuy có bộ nhiễm sắc thể đơn bội nhưng hữu thụ nghĩa là có khả năng giao cấu cung cấp tinh trùng cho ong chúa. Qua giảm phân, các noãn bào

của ong chúa phân chia tạo nên trứng đơn bội. Đối với ong đực, tinh bào không giảm phân mà thông qua nguyên phân để tạo nên tinh trùng đơn bội. Ong chúa được phát triển từ ấu trùng cái được nuôi dưỡng bằng thức ăn đặc biệt (sữa ong chúa) nên có kích thước lớn hơn và có khả năng sinh sản. Mỗi quần thể (tổ ong) thường chỉ có một ong chúa và chỉ khi san đàn thì ong chúa mới được tạo ra từ ấu trùng cái.

– Sự bù liều của các gen liên kết X:

Các cơ thể sinh sản hữu tính ở con đực cũng như con cái, mỗi gen đều có 2 bản (gen - alen) định vị trong 2 nhiễm sắc thể tương đồng. Nhưng đối với nhiễm sắc thể giới tính, nếu ở con cái có 2 X còn ở con đực chỉ có 1 X nghĩa là ở con cái các gen trong X đều có alen tương ứng, còn ở con đực các gen trong X không có alen tương ứng. Để bù đắp cho sự thiếu hụt này có cơ chế bù liều (dosage compensation) thuộc 2 kiểu khác nhau: 1) bất hoạt của một nhiễm sắc thể X ở con cái (quan sát thấy ở động vật có vú), 2) tăng cường hoạt động của nhiễm sắc thể X ở con đực (quan sát thấy ở ruồi quả).

+ Bất hoạt các gen liên kết – X ở con cái động vật có vú: Cơ chế bất hoạt một X ở con cái động vật có vú được Mary Lyon đề xuất từ năm 1961 khi nghiên cứu trên chuột nhắt. Sự bất hoạt của một X xảy ra trong quá trình phát triển phôi chuột khi phôi đạt cỡ vài nghìn tế bào. Sự lựa chọn bất hoạt X nào trong 2 X là ngẫu nhiên, tùy thuộc vào từng tế bào nhưng kết quả là toàn bộ tế bào của cơ thể đều chứa một X bất hoạt (chứa gen không hoạt động). Như vậy ở con cái động vật có vú chứa hai dòng tế bào khảm di truyền: một dòng chứa X bất hoạt đến từ mẹ và một dòng chứa X bất hoạt đến từ bố. Cá thể cái là dị hợp tử về gen liên kết – X sẽ có khả năng cho ra 2 kiểu hình khác nhau. Ví dụ, điển hình là kiểu hình khảm được quan sát thấy ở màu lông chuột và mèo. Đối với cả 2 loài, nhiễm sắc thể X chứa gen quy định màu lông. Con cái là dị hợp về gen này có đặc điểm khảm về màu lông: lông có các đốm sáng (trắng, vàng) xen lẫn các đốm đen (ví dụ mèo đốm, chuột đốm, chó đốm). Màu đốm trắng do một alen quy định, còn màu đốm đen do alen kia quy định. Tuy cơ chế của sự bất hoạt X còn nhiều vấn đề chưa được sáng tỏ, nhưng nhiều nghiên cứu di truyền đã chứng minh rằng sự bất hoạt xảy ra ở một vùng của vế dài của X được gọi là trung tâm bất hoạt X – XIC (X - inactivation center). Từ vùng XIC sự bất hoạt sẽ lan ra cả 2 vế của X thể hiện ở sự methyl hóa ADN và sự xoắn lại và cô đặc của sợi nhiễm sắc (dị nhiễm

sắc hóa - heterochromatine). Nhiễm sắc thể X bị dị nhiễm sắc hóa thể hiện ra ở thể Barr (được Muray Barr phát hiện lần đầu tiên) trong nhân tế bào soma của con cái (thấy rõ nhất trong tế bào xoang miệng nữ giới). Nhiễm sắc thể X bất hoạt tồn tại trong tất cả tế bào soma của cơ thể, nhưng trong dòng tế bào mầm (tế bào sinh dục) thì X bất hoạt được tái hoạt hóa vì sự cần thiết cho quá trình sinh trứng (oogenesis). Ở người, trong trường hợp sai lệch nhiễm sắc thể giới tính, nữ giới có số lượng XXX vẫn là bình thường vì 2 trong 3 X của họ là bất hoạt.

+ Tăng hoạt tính của các gen liên kết – X ở ruồi quả đực: Đối với ruồi quả, sự bù liều gen xảy ra theo cơ chế tăng cường hoạt động của gen trong nhiễm sắc thể X ở con đực, trong đó có vai trò của gen Sxl (gen gây chết) là gen có tác động chủ đạo trong sự xác định giới tính. Ở con cái, gen Sxl hoạt động, còn ở con đực gen Sxl không hoạt động. Khi không có sản phẩm của gen Sxl (gen Sxl không hoạt động ở con đực), một phức hệ protein sẽ tác động kích thích các gen trong X tăng cường hoạt động gấp 2 lần. Khi gen Sxl hoạt động (ở con cái), sản phẩm của gen Sxl sẽ kìm hãm phức hệ protein do đó sự tăng cường hoạt động gen trong X không xảy ra. Bằng cơ chế bù liều như vậy, sự hoạt động của các gen liên kết với X được cân bằng như nhau.

3.4. Trung tiết (Centromere)

Trung tiết là cấu trúc định khu trên chiều dọc nhiễm sắc thể ở vùng được gọi là eo thắt cấp 1 (primary constriction). Ở trung kỳ ta dễ dàng quan sát thấy trung tiết, vì trung tiết là nơi 2 nhiễm sắc tử đính kết với nhau. Ở trung kỳ sớm, trung tiết phân hoá thành tâm động (kinetochore) để đính với các sợi tâm động của thoi phân bào ở cả 2 phía đối mặt với 2 cực và có chức năng di chuyển nhiễm sắc tử về 2 cực. Nghiên cứu về sinh học phân tử cho biết: vùng trung tiết (trên nhiễm sắc thể của Nấm men mọc chồi - *Saccharomyces cerevisiae*) được cấu tạo gồm đoạn ADN không có cấu trúc nucleoxom, chứa khoảng 125 cặp nucleotit gồm 3 đoạn, đoạn I và đoạn III ở hai đầu cuối và đoạn II ở giữa, trong đó đoạn II có khoảng 90 cặp nucleotit và giàu A:T (>90%) có khả năng liên kết với protein của sợi tâm động của thoi phân bào tạo thành tâm động. Trung tiết có vai trò vận chuyển nhiễm sắc tử về 2 cực tế bào (thông qua sự tạo tâm động). Ngoài ra, người ta cho rằng tâm động còn có chức năng tham gia vào di truyền ngoại sinh

(epigenetic) là biến đổi di truyền không do sự biến đổi nucleotit của ADN mà do sự thay đổi sự biểu hiện của gen do sự methyl hóa ADN, do sự liên kết của ADN với protein cũng như do cấu trúc không gian của sợi nhiễm sắc trong nhiễm sắc thể. Đối với Nấm men phân đôi (*Schizosaccharomyces pombe*), ruồi quả cũng như ở người, trung tiết có cấu tạo phức tạp hơn nhiều. Trung tiết của *S. pombe* gồm 110.000 cặp nucleotit, của ruồi quả gồm 420.000 cặp nucleotit và của người gồm từ 300.000 cặp (trung tiết của nhiễm sắc thể Y) cho đến 5 triệu cặp nucleotit (trung tiết nhiễm sắc thể số 7), trong đó chứa nhiều ADN satellit là ADN chứa rất nhiều nucleotit lặp.

Trung tiết chia nhiễm sắc thể thành 2 cánh, chiều dài của 2 cánh phụ thuộc vào vị trí trung tiết. Người ta thành lập chỉ số trung tiết (*centromere index Ic*) để xác định vị trí của trung tiết và phân loại các nhiễm sắc thể (hình 5.4).

$$Ic = \frac{P}{P+Q}$$

P: chiều dài cánh ngắn.

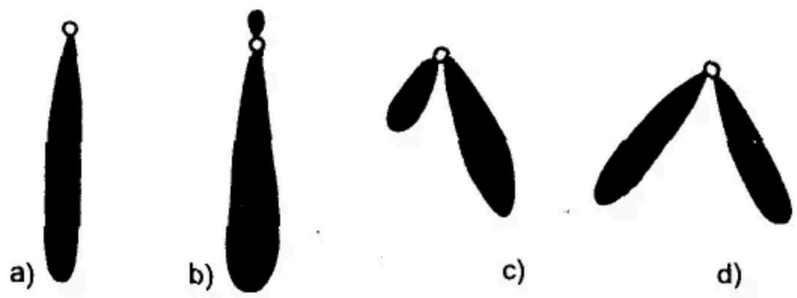
Q: chiều dài cánh dài.

a) Nhiễm sắc thể tâm mút (acrocentric chromosome) có trung tiết ở đầu mút của cánh ngắn.

b) Nhiễm sắc thể cận mút (telocentric chromosome) có trung tiết ở gần đầu mút của cánh ngắn.

c) Nhiễm sắc thể cận tâm (tâm lệch) (submetacentric chromosome) có trung tiết ở gần chính giữa, (cánh P ngắn hơn cánh Q).

d) Nhiễm sắc thể tâm giữa (metacentric chromosome) có trung tiết ở chính giữa chia 2 cánh bằng nhau.



Hình 5.4. *Phân loại các nhiễm sắc thể theo vị trí của trung tiết*
a) NST tâm mút; b) NST tâm cận mút; c) NST tâm lệch; d) NST tâm giữa

3.5. Tiết mút (telomere)

Mỗi nhiễm sắc thể chứa 1 phân tử ADN liên kết với protein tạo thành các sợi nhiễm sắc xoắn, gấp khúc chạy suốt nhiễm sắc thể. Đầu tận cùng của phân tử ADN (ở đầu tận cùng của nhiễm sắc thể) được gọi là tiết mút. Từ năm 1938, Herman J. Muller gọi đầu tận cùng nhiễm sắc thể là tiết mút (telomere) và chứng minh rằng các nhiễm sắc thể bị tác động tia X làm đứt gãy tiết mút sẽ không còn khả năng truyền cho thế hệ sau. Khi nghiên cứu trên nhiễm sắc thể của ngô, bà Barbara McKlintock đã chứng minh là các nhiễm sắc thể bị đứt gãy tiết mút có xu thế dính kết với các đoạn nhiễm sắc thể khác bị mất tiết mút và như vậy tiết mút có vai trò giữ cho các nhiễm sắc thể trong bộ không dính kết với nhau. Như vậy tiết mút có cấu trúc đặc biệt. Những dẫn liệu về cấu trúc phân tử đã chứng minh là tiết mút có ba chức năng quan trọng: 1) Ngăn cản không cho enzim deoxiribonucleaza phân giải đầu tận cùng của phân tử ADN, 2) Ngăn cản không cho các nhiễm sắc thể trong bộ dính kết với nhau và 3) Tạo thuận lợi cho sự tái bản ADN ở phần đầu cuối của phân tử. Tiết mút có cấu trúc và thành phần nucleotit đặc thù gồm những đoạn lặp nucleotit, tuy ở các loài khác nhau thì khác nhau nhưng thường thể hiện theo phương thức 5' – T_{1-4} A_{0-1} G_{1-8} – 3'. Ví dụ ở người cũng như các động vật có xương sống, đoạn lặp đó là TTAGGG, ở bọn đơn bào *Tetrahymena thermophila* có đoạn lặp là TTGGGG, ở thực vật *Arabidopsis thaliana* có đoạn lặp là TTTAGGG. Đối với động vật có xương sống thì đoạn lặp TTAGGG mang tính ổn định cao và đã được phát hiện thấy trên 100 loài khác nhau bao gồm động vật có vú, chim, bò sát, ếch nhái và cá. Số lượng đoạn lặp thay đổi tùy loài, tùy nhiễm sắc thể trong bộ của loài, hoặc ngay trong một nhiễm sắc thể nhưng ở các tế bào biệt hóa khác nhau. Ở người, trong các tế bào soma lành (không bị ung thư) tiết mút thường chứa tới 500 - 3000 đoạn lặp TTAGGG và chúng bị bớt ngắn dần theo tuổi thọ. Trái lại, trong các tế bào dòng sinh dục và tế bào ung thư thì số lượng đoạn lặp của tiết mút không bị bớt đi theo tuổi. Nhiều nghiên cứu về thành phần nucleotit và cấu trúc phân tử của tiết mút đã chứng minh rằng, các trình tự lặp nucleotit của tiết mút được tạo nên với sự tham gia của enzim telomeraza (nếu thiếu enzim telomeraza, các điểm mút sẽ bị ngắn dần dẫn tới làm mất các gen quan trọng) và có các protein

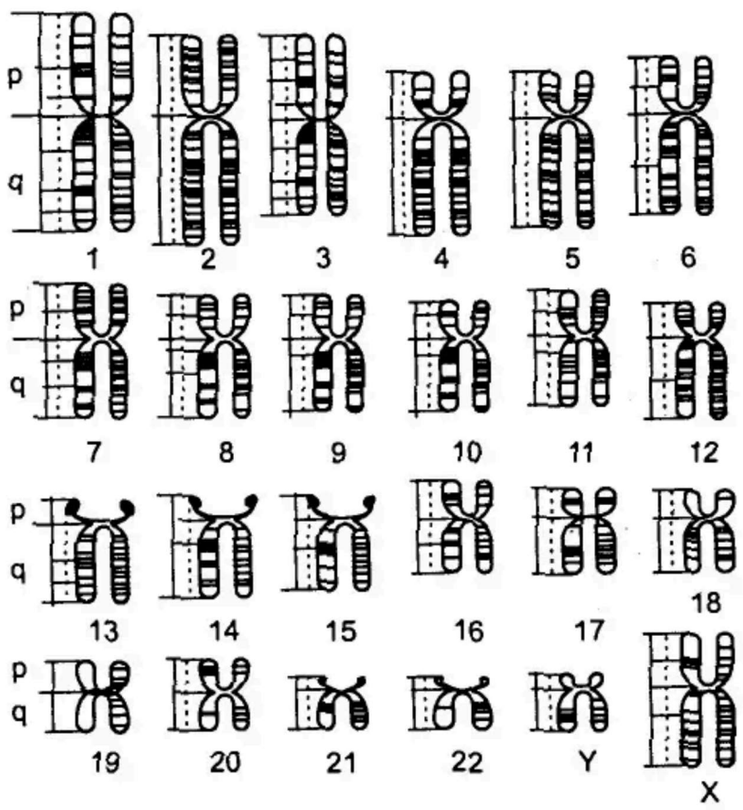
đặc thù liên kết với tiết mút tạo nên tính bền vững của tiết mút (không cho các nhiễm sắc thể dính nhau). Như vậy tiết mút có vai trò không chỉ là ngăn cản không cho các nhiễm sắc thể trong bộ dính kết lại với nhau, nhưng đồng thời còn tham gia vào sự điều chỉnh tần số phân bào. Nhiều dẫn liệu còn cho rằng, tiết mút còn có vai trò tạo điều kiện cho các nhiễm sắc thể tương đồng nhận biết nhau và bắt cặp ở tiền kỳ giảm phân I.

Đa số các tế bào soma của người thiếu hoạt tính của enzim telomeraza và khi các tế bào soma được đem nuôi cấy *invitro* chúng có số lượng lần phân bào hạn chế (chỉ khoảng 20-70 lần), sau đó đi vào thoái hóa và chết. Người ta đã quan sát thấy tỷ lệ chiều dài của tiết mút với số lần phân bào. Tế bào có tiết mút dài hơn có số lần phân bào nhiều hơn, tức là sống lâu hơn. Các tế bào ung thư được coi là "bất tử" trong nuôi cấy *invitro*, chúng luôn phân bào vì các tế bào con luôn có hoạt tính telomeraza như tế bào mẹ (tiết mút không bị ngắn đi qua mỗi lần phân bào). (Cũng do đây, có người đề nghị sử dụng enzim telomeraza như là tác nhân chống ung thư vì hoạt tính phân bào của chúng sẽ bị ức chế và giảm dần). Khi nghiên cứu những người bị bệnh già trước tuổi (progeria) đã có biểu hiện sự già ở tuổi 8-10 (giống các cụ già 70-80 tuổi), người ta thấy rằng tiết mút của các tế bào soma của họ rất ngắn, do đó khả năng tăng sinh tế bào *in vitro* bị giảm hẳn. Chắc chắn là có sự tương quan giữa chức năng của tiết mút với sự già.

3.6. Các băng nhiễm sắc (*chromosome bands*)

Bằng kỹ thuật nhuộm cắt băng-nhuộm bằng các chất huỳnh quang, hoặc nhuộm màu kết hợp với xử lý bằng enzim, hoặc bằng nhiệt sẽ làm xuất hiện các băng trên nhiễm sắc thể. Người ta phân biệt các băng Q, C, G, hoặc R. Sự phân bố của các băng thể hiện đặc tính của từng nhiễm sắc thể trong bộ, cũng như giữa các loài khác nhau.

Sự hiện diện và phân bố của các băng ở nhiễm sắc thể trung kỳ có thể là sự phản ánh kiểu tổ chức thành nhóm đơn vị của sự hoạt hoá gen. Ví dụ, băng C là tương ứng với vùng chứa chất dị nhiễm sắc ổn định chứa ADN lặp liên kết rất chặt với các protein axit. Băng C thường phân bố ở vùng quanh trung tiết (hình 5.5).



Hình 5.5. Kiểu nhân của người (nhuộm cắt băng)

3.7. Cấu trúc siêu vi của chất nhiễm sắc

Nghiên cứu hiển vi điện tử đã chứng minh là chất nhiễm sắc được cấu tạo bởi nhiều sợi nhiễm sắc xếp xoắn chặt với nhau. Trong nhân gian kỳ, đường kính của sợi thay đổi từ 10nm (ở vùng chất nhiễm sắc thưa) đến 20 - 25nm (ở vùng chất nhiễm sắc dày).

Độ xoắn của các sợi cũng thay đổi, chúng xoắn chặt chẽ trong các vùng chất dị nhiễm sắc (heterochromatine), còn trong các vùng chất nhiễm sắc thực (eurochromatine) thì các sợi giãn ra hoặc ít xoắn hơn.

a) Chất dị nhiễm sắc (heterochromatine): Chất dị nhiễm sắc chiếm đến 90% chất nhiễm sắc, thường biểu hiện ở dạng các búi rất đậm đặc trong nhân gian kỳ, trong đó chứa các đoạn ADN không hoạt động (không phiên mã) và rất giàu histon H_1. Chất dị nhiễm sắc tồn tại ở 2 dạng:

– Dạng ổn định là dạng chứa ADN lặp không có cấu trúc gen (nghĩa là không chứa mã), hoặc là một đoạn hay cả nhiễm sắc thể trong suốt chu kỳ tế bào vẫn giữ ở trạng thái cô đặc (ví dụ chất nhiễm

sắc giới tính - thể Barr là một nhiễm sắc thể X, hoặc một phần nhiễm sắc thể Y là thuộc chất dị nhiễm sắc ổn định).

– Dạng tạm thời là dạng trong đó các gen bị đóng. Sự không hoạt động của một phần nhiễm sắc thể không làm thay đổi cấu trúc gen của chúng. Các gen hoạt động theo kiểu đóng, mở tuỳ loại tế bào qua quá trình biệt hóa tế bào không thuộc dạng chất dị nhiễm sắc.

b) Chất nhiễm sắc thực (eurochromatine): Trong nhân gian kỳ, các vùng chất nhiễm sắc thực gồm các sợi nhiễm sắc ít cô đặc hơn và thường ở dạng các sợi nucleoxom. Về mặt di truyền chúng chứa các gen hoạt động. Trong các vùng này, ADN thường chứa các gen không lặp và được phiên mã cho ra các mARN, tARN và rARN 5S...

Trong nhiễm sắc thể, ADN liên kết với protein histon tạo nên cấu trúc sợi xoắn nhiều cấp được gọi là sợi nhiễm sắc (chromonema). Sợi nhiễm sắc cơ bản có đường kính 11nm là chuỗi hạt cườm, được gọi là sợi nucleoxom (nucleosome fiber).

Histon thuộc loại protein kiềm (chứa các axit amin kiềm như lizin, acginin). Tùy theo khối lượng phân tử và hàm lượng các axit amin kiềm, người ta phân biệt 5 loại histon khác nhau (bảng 5.2).

Bảng 5.2. Các loại histon

Loại histon	Hàm lượng lizin, acginin	Số axit amin	Khối lượng phân tử (Da)
H_1	Rất giàu lizin	215	21.500
H_2A	Giàu lizin	129	14.000
H_2B	Giàu lizin	125	13.775
H_3	Giàu acginin	135	15.320
H_4	Giàu acginin	102	11.280

Một trong những đặc tính của histon cũng giống như ADN là hàm lượng của chúng trong nhân tương đối cố định, và tính ít thay đổi trong các điều kiện sinh lý khác nhau. Vì histon luôn luôn liên kết với ADN nên người ta cho rằng histon đóng vai trò quan trọng trong sự trao đổi chất của tế bào, tham gia vào quá trình điều hòa hoạt động của gen.

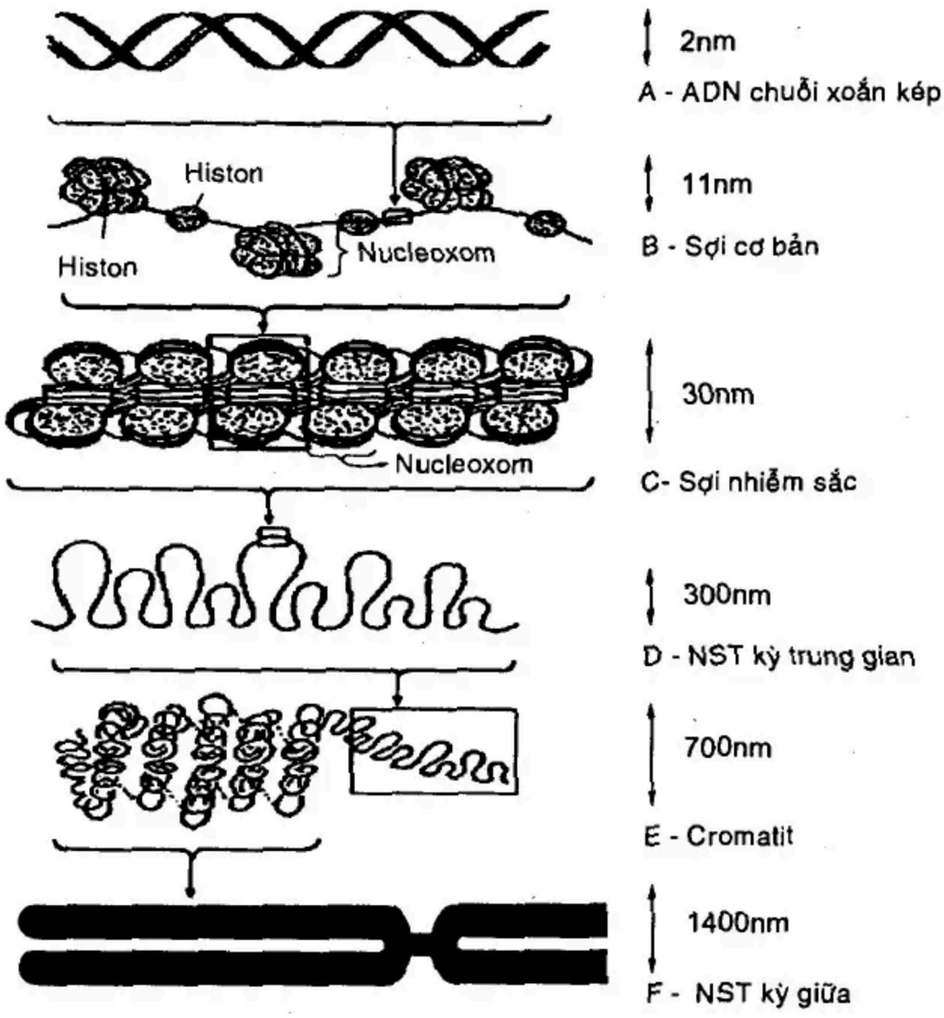
Mỗi hạt cườm là một nucleoxom có kích thước 10nm dạng khúc giò gồm: lõi được cấu tạo bởi 8 phân tử histon ($2H_2A$, $2H_2B$, $2H_3$, và $2H_4$); sợi xoắn kép ADN cuốn xung quanh lõi histon với $1\frac{3}{4}$ vòng (chứa khoảng 146 đôi nucleotit). Các nucleoxom nối với nhau qua sợi xoắn kép ADN dài khoảng 60 nucleotit. Các sợi nucleoxom 10nm gấp khúc, cuộn lại nhờ các histon H_1 để tạo thành các sợi nhiễm sắc lớn hơn có đường kính 30nm, được gọi là sợi solenoid (solenoid fiber), chắc rằng trong nhân gian kỳ, các sợi nhiễm sắc tồn tại ở trạng thái các sợi nucleoxom và sợi solenoid. Trong thời gian phiên mã, cấu tạo của lõi histon bị biến đổi, sợi ADN được nới lỏng và tháo xoắn tạo điều kiện cho enzim ARN polimeraza hoạt động.

Sợi nhiễm sắc 30nm sẽ gấp khúc tạo nên sợi có cấp độ đường kính lớn hơn (khoảng 300nm) chứa các vòng bên (looped domains). Mỗi vòng bên chứa khoảng 20.000 - 80.000 cặp nucleotit. Các sợi 300nm sẽ cuộn lại tạo nên các sợi nhiễm sắc ở cấp độ lớn hơn từ 700nm đến 1400nm, tức là các nhiễm sắc tử và nhiễm sắc thể thấy rõ ở trung kỳ của phân bào (hình 5.6).

Nhiều tác giả cho rằng, cấu trúc vòng bên là đơn vị hoạt động của gen và thể hiện rõ nhất ở các cấu trúc vòng bên của nhiễm sắc thể khổng lồ (giant chromosome), hoặc nhiễm sắc thể chổi bóng đèn (lampbush chromosome). Ngoài protein histon, liên kết với nhiễm sắc thể còn có các protein axit, chúng rất đa dạng về thành phần và chức năng nhưng chủ yếu là đóng vai trò tham gia điều hòa hoạt động của gen.

Như vậy, ở Eucaryota, cấu trúc nhiễm sắc thể không chỉ là giá thể chứa ADN mà là tổ chức trong đó gen và hệ gen hoạt động một cách có hiệu quả cao nhất, đáp ứng sự tồn tại và phát triển của cơ thể.

Trong các tế bào soma và tế bào sinh dục nguyên thủy, nhiễm sắc thể tồn tại thành cặp 2n (ví dụ người 2n = 46) gồm một chiếc từ bố và một chiếc từ mẹ (n = 23), do đó dẫn đến các locut gen định vị trong nhiễm sắc thể đều tạo thành cặp gen - alen, chúng phân ly qua phân bào giảm nhiễm và tái tổ hợp qua thụ tinh. Trong tế bào soma, gen - alen phối hợp hoạt động theo quy luật nhất định để tạo nên các tính trạng của cơ thể.



Hình 5.6. *Cấu trúc siêu vi và phân tử của nhiễm sắc thể*

Trong mỗi nhiễm sắc thể được phân hoá thành các cấu trúc có vai trò nhất định như vùng chất nhiễm sắc thực (eurochromatine), vùng chất dị nhiễm sắc (heterochromatine), vùng trung tiết hay tâm động (centromere), vùng tận cùng hay tiết mút (telomere).

Trong bộ nhiễm sắc thể cũng được phân hoá thành các cặp nhiễm sắc thể thường (autosome) và cặp nhiễm sắc thể giới tính (sex chromosme), các nhiễm sắc thể có thể kèm và chứa vùng NOR - nơi định khu các gen rARN.

3.8. Đột biến nhiễm sắc thể (chromosome aberration)

Các nhà di truyền học tế bào bằng kỹ thuật phân tích kiểu nhân (caryotype) ở nguyên phân (mitosis) và giảm phân (meiosis) của nhiều cơ thể thường và cơ thể đột biến đã phát hiện ra các đột biến nhiễm sắc thể. Các đột biến đó có thể là các sai lệch về số lượng

nhiễm sắc thể trong bộ hoặc là các sai lệch về cấu trúc của từng nhiễm sắc thể trong bộ.

a) Đột biến số lượng nhiễm sắc thể

Mỗi một loài có số lượng nhiễm sắc thể ổn định trong bộ nhiễm sắc thể (ploidy) của mình. Cơ thể chứa bộ nhiễm sắc thể với số lượng ổn định của loài được gọi là chuẩn bội (euploid). Ví dụ, ở người, chuẩn bội của bộ đơn bội n = 23 và chuẩn bội của bộ lưỡng bội 2n = 46. Số lượng nhiễm sắc thể trong bộ có thể bị biến đổi sai lệch so với bộ chuẩn bội. Khi số lượng nhiễm sắc thể trong bộ tăng lên theo bội số của n xuất phát (còn được gọi là x) - người ta gọi là bộ đa bội (polyploid) (ví dụ 3n, 4n), còn khi số lượng nhiễm sắc thể thay đổi nhiều hơn hay ít hơn một vài nhiễm sắc thể trong bộ - người ta gọi là bộ lệch bội (aneuploid).

– Đa bội (polyploid):

+ *Hiện tượng đa bội* là hiện tượng khi số lượng nhiễm sắc thể trong bộ tăng lên theo bội số của n xuất phát (3n, 4n...), là hiện tượng thường xuyên quan sát thấy ở thực vật và hiếm thấy ở động vật. Khoảng có 1/2 số loài thực vật hiện biết là các loài đa bội. Đối với cây thảo thì có đến 2/3 loài là đa bội. Đa số các loài thực vật đa bội đều có thể sinh sản bằng sinh dưỡng (sinh sản vô tính). Đối với động vật là các cơ thể có phương thức sinh sản hữu tính là chủ yếu cho nên hiện tượng đa bội là hiếm, chắc chắn là có liên quan đến cơ chế sinh sản hữu tính, tức liên quan đến giảm phân và thụ tinh, vì các bộ đa bội qua giảm phân đều cho ra các giao tử mất cân bằng về bộ nhiễm sắc thể nên sẽ tạo ra các hợp tử kém sức sống hoặc chết.

Thường các cơ thể đa bội có tế bào lớn hơn, chứa các chất hữu cơ nhiều hơn, do đó các cây đa bội có cơ thể, cơ quan kể cả cơ quan như hạt, quả, củ to hơn và chứa nhiều chất hữu cơ hơn, vì vậy các dạng đa bội được các nhà chọn giống và trồng trọt quan tâm đặc biệt.

Các cây lương thực quý như lúa mì, khoai tây, cây thực phẩm như cà chua, chuối, dâu tây; cây công nghiệp như cà phê, bông, dâu tằm; các cây cảnh như hồng, cúc, tulip, v.v... đều là các cây đa bội.

+ Người ta thường phân biệt 2 dạng đa bội là *đa bội cùng nguồn* (hay là tự đa bội - autopolyploid) và *đa bội khác nguồn* (hay là dị đa bội - allopolyploid).

* *Dạng tự đa bội* là do hiện tượng nội phân (endomitosis) tạo nên, tức là trường hợp tế bào đã trải qua giai đoạn S - hàm lượng ADN đã

được nhân đôi và số lượng nhiễm sắc thể đã gấp đôi nhưng không xảy ra hiện tượng phân bào dẫn tới sự tăng bội số nhiễm sắc thể trong bộ, và vì chúng có cùng nguồn gốc nên được gọi là đa bội cùng nguồn, và còn được gọi là đa bội mitos. Ví dụ, một cơ thể có kiểu gen 2n = 4 (AABB), trải qua giai đoạn S, số lượng nhiễm sắc thể tăng gấp đôi nhưng chúng không phân ly, chúng ở lại trong nhân và tạo nên dạng đa bội 4n = 8 (AAAABBBB).

Các mô khác nhau trong cơ thể đa bào có thể tự đa bội hoá với mục đích phục vụ cho cơ thể đa bào, ví dụ mô rễ dự trữ chất dinh dưỡng. Nhờ phương pháp sinh sản sinh dưỡng, từ các mô, hoặc từ cơ quan đa bội có thể cho ra các cây đa bội.

Các loài trong chi Hoa Cúc *(Chrysanthemum)* là các loài tự đa bội. Số đơn bội khởi nguyên n hay là nguyên bội (monoploid) (còn được gọi là x) = 9. Loài Cúc lưỡng bội 2n = 18, loài tứ bội 2n = 36, lục bội 2n = 54, bát bội 2n = 72 và thập bội 2n = 90. Những dạng Cúc đa bội đều có hoa to, nhiều cánh.

* *Dạng dị đa bội* có nguồn gốc từ hiện tượng lai các loài khác nhau, tức là phải thông qua sinh sản hữu tính (thông qua giảm phân và thụ tinh) nên được gọi là đa bội khác nguồn, hoặc đa bội meios. Ví dụ, một loài có kiểu gen 2n = 2 (AA) và một loài khác có kiểu gen 2n = 2 (BB), qua giảm phân do phân ly không cân bằng nên có thể cho ra các loại giao tử khác nhau và khi tạo hợp tử sẽ hình thành các cơ thể dị đa bội 4n = 4 (AABB), hoặc 3n = 3 (AAB) (hoặc ABB). Các cơ thể dị đa bội có thể sinh sản sinh dưỡng cho ra các cơ thể thế hệ sau đều là dị đa bội và trường hợp này được gọi là song lưỡng bội (amphidiploid).

Mặc dù các dạng đa bội có nhiều đặc tính về năng suất cao nhưng chúng thường bất thụ khi sinh sản hữu tính, bởi vì qua giảm phân thường tạo nên các giao tử không cân bằng về bộ nhiễm sắc thể (giao tử mang bộ nhiễm sắc thể lệch bội), nếu các giao tử này được thụ tinh sẽ tạo nên các hợp tử chết. Ví dụ, một loài tam bội 3n khi giảm phân lần I có thể tạo nên các tiếp hợp ở dạng lưỡng trị (bivalent), nhưng cũng có thể là tam trị (trivalent), hoặc đơn trị (univalent) và qua giảm phân II sẽ tạo nên các giao tử không cân bằng từ 0 cho đến 3n. Hợp tử do các giao tử không cân bằng tạo ra sẽ không có sức sống và thường chết. Vì vậy, trong chọn giống, người ta phổ biến và nhân giống cây đa bội bằng phương pháp sinh sản sinh dưỡng (trồng bằng chiết cành, ghép cành, giâm củ v.v...) hoặc bằng công nghệ nhân bản vô tính.

Tuy vậy, cũng có nhiều dạng đa bội có khả năng sinh sản hữu tính, đó là những dạng đa bội qua giảm phân hình thành các giao tử cân bằng hoặc các cơ thể lai đa bội không cân bằng tuy bất thụ nhưng qua sự nhân đôi nhiễm sắc thể chúng trở thành đa bội cân bằng và sẽ hữu thụ. Ví dụ, nếu ta đem lai 2 loài lưỡng bội 2n gần gũi là AA và BB ta sẽ được con lai 2n (AB) bất thụ, vì khi giảm phân A không thể bắt cặp tiếp hợp với B. Khi bộ nhiễm sắc thể 2n của con lai nhân đôi sẽ cho ra dạng tứ bội 4n (AABB), vì vậy qua giảm phân các nhiễm sắc thể tương đồng là AA và BB sẽ bắt cặp tiếp hợp và sẽ cho ra các giao tử cân bằng (AB), từ đó sẽ tạo nên hợp tử 4n (AABB) hữu thụ. Một trong nhiều ví dụ, điển hình là loài lúa mì lục bội 6n = 42 hiện nay (*Triticum aestivum*) được hình thành bằng con đường như vậy.

Khi lai 2 loài lúa mì lưỡng bội 2n = 14 là AA với loài 2n = 14 là BB sẽ cho ra lúa mì lưỡng bội 2n = 14 là AB sẽ bất thụ, nhưng cơ thể lai AB sẽ nhân đôi nhiễm sắc thể để tạo dạng tứ bội 4n = 24 là AABB. Khi dạng tứ bội này lai với dạng lưỡng bội 2n = 14 là DD sẽ tạo ra dạng tam bội 3n = 21 là ABD sẽ bất thụ, nhưng khi chúng nhân đôi nhiễm sắc thể tạo ra dạng lúa mì lục bội 6n = 42 là AABBDD sẽ hữu thụ.

Hiểu rõ cơ chế hình thành các dạng đa bội cùng đặc tính của chúng, các nhà di truyền và nhà chọn giống đã thành công trong việc lai tạo các giống đa bội thực nghiệm có ý nghĩa kinh tế cao. Ngay từ năm 1920, nhà nghiên cứu di truyền tế bào người Nga là Karpechenko đã chỉ ra rằng, bằng phương pháp lai thực nghiệm nhiều loài khác nhau có thể tạo ra các loài đa bội hữu thụ. Ví dụ, ông đã tạo ra giống cải mới hoàn toàn tứ bội 4n = 36, được đặt tên là *Raphano brassica*, do lai giữa 2 loài lưỡng bội 2n = 18 là loài cải củ *Raphanus sativus* với loài cải *Brassica oleracea*.

Các nhà thực nghiệm đã kết hợp phương pháp lai với phương pháp tự tạo đa bội bằng sử dụng hoá chất gây đột biến, ví dụ, dùng chất colchicin là chất alcaloid chiết xuất từ cây *Colchicum autumnale*. Chất colchicin có tác dụng ức chế sự tạo thoi phân bào, do đó nó ức chế phân bào nên tạo ra tế bào và cơ thể tự đa bội và bằng phương pháp sinh sản sinh dưỡng người ta có thể nhân giống nhanh các cây đa bội. Ví dụ từ năm 1940, J.O.Beasley đã thành công tạo ra loại bông *Gossypium sp* tứ bội 4n = 52 có năng suất cao. Đem lai bông Châu Âu 2n = 26 với bông Mỹ 2n = 26, ông thu được bông lai 2n = 26 bất thụ. Đem xử lý bông lai với colchicin ông thu được bông tứ bội 4n = 52 hữu thụ.

Hiểu rõ được cơ chế hình thành các dạng đa bội từ nguyên bội,

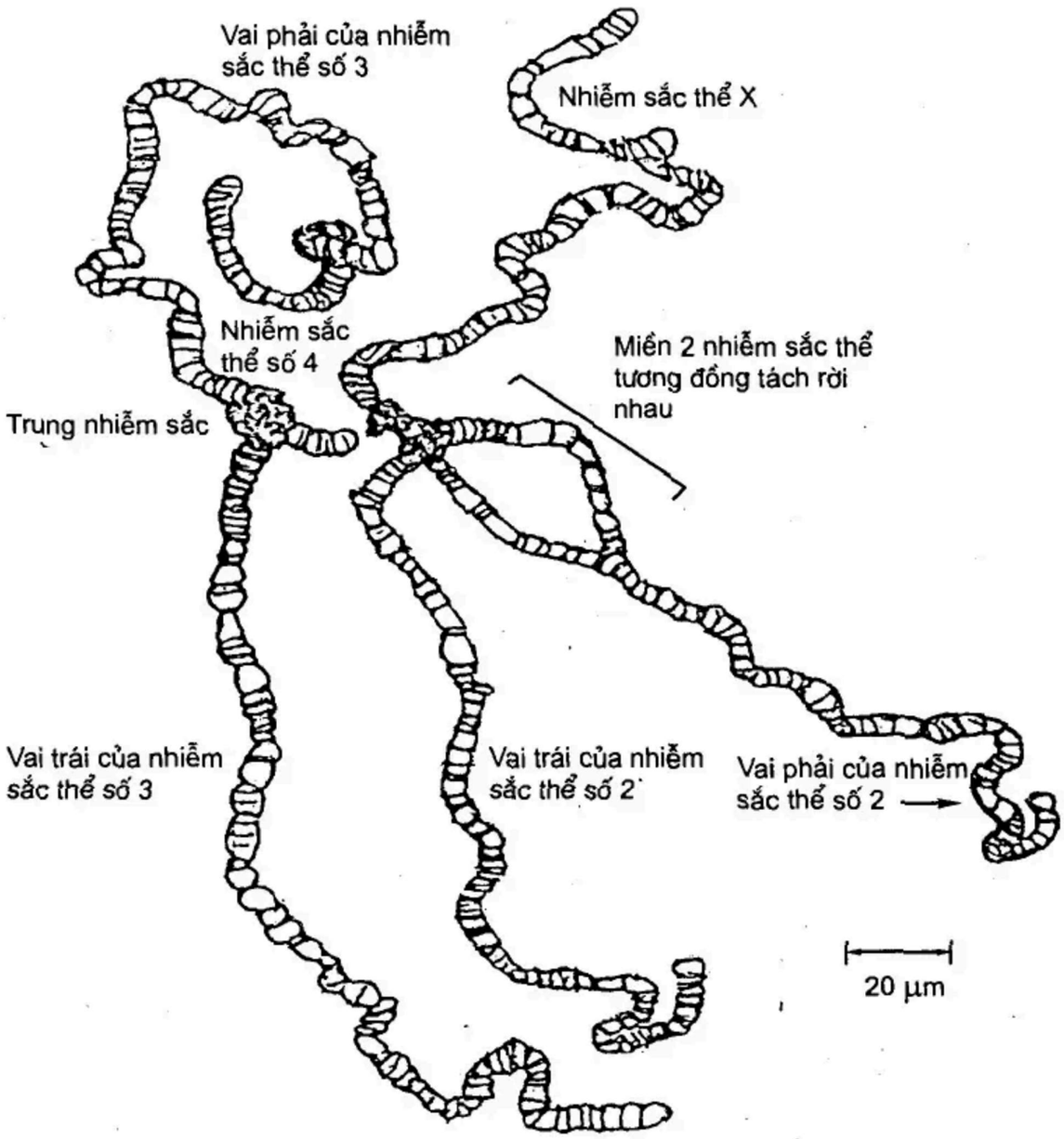
các nhà chọn giống đã chọn được các dạng nguyên bội (monoploid) gốc, kết hợp công nghệ nuôi cấy tế bào, công nghệ chuyển gen, để tạo nên các dạng cây trồng lưỡng bội và đa bội có nhiều đặc tính mong muốn như năng suất cao, giàu chất dinh dưỡng, chống chịu bệnh, thích nghi với các điều kiện sống khác nhau.

Tần số và tính phổ biến của hiện tượng đa bội trong tự nhiên ở thực vật đã nói lên tầm quan trọng của hiện tượng đa bội trong tiến hóa của Thực vật. Các loài Mộc tặc và Thông đất có độ đa bội rất cao. Trong Thực vật hạt trần, độ đa bội ít hơn nhưng ở Dương xỉ và Thực vật hạt kín thì lại rất phổ biến. Đối với cây hạt kín, độ đa bội có thể có đến 30 - 35%, ở một số cây hòa thảo có thể có tới 75% cây là đa bội. Rõ ràng là các dạng đa bội thường có sức sống cao và dễ dàng thích nghi với điều kiện sinh thái thay đổi, tạo ưu thế cho sự phổ biến của chúng ra các vùng sinh thái khác nhau.

Hiện tượng đa bội thường thấy ở thực vật, còn ở động vật ít có trường hợp đa bội. Ở ếch, người ta quan sát thấy có trường hợp bát bội 8n = 104 thể nhiễm sắc. Ở động vật có vú, trường hợp đa bội quan sát thấy ở chuột đồng (*Cricetus cricetus*). Nói chung ở động vật bậc cao, tế bào hoặc mô đa bội thể hiện tình trạng bệnh lý.

– Nhiễm sắc thể đa sợi:

Một dạng đa bội hóa đặc biệt được gọi là dạng đa sợi hóa (politenisation) sẽ dẫn tới tạo thành các nhiễm sắc thể đặc biệt là nhiễm sắc thể đa sợi (politene chromosome), hay còn gọi là nhiễm sắc thể khổng lồ (gigant chromosome) (hình 5.7). Được gọi như thế bởi vì nhiễm sắc thể được cấu tạo gồm rất nhiều sợi nhiễm sắc (có thể tới hàng nghìn sợi) xếp song song sát nhau và có kích thước rất lớn và rất dài so với kích thước của nhiễm sắc thể bình thường. Nhiễm sắc thể đa sợi lần đầu tiên được phát hiện vào cuối thế kỷ XIX bởi nhà tế bào học Italia E.G.Balbiani vào năm 1881 ở muỗi lắc (*Chironomus*), nhưng mãi đến những năm 30 của thế kỷ XX, nhờ công trình nghiên cứu của T. Painter, C.B. Bridges trên đối tượng ruồi quả (*Drosophila melanogaster*) thì cấu trúc và chức năng của nhiễm sắc thể đa sợi mới được làm sáng tỏ. Nhiễm sắc thể đa sợi thường được quan sát thấy trong các tế bào tuyến nước bọt của ấu trùng của sâu bọ 2 cánh. Ở *Drosophila melanogaster*, vào giai đoạn ấu trùng muộn (giai đoạn tuổi III) thì các nhiễm sắc thể trong nhân tế bào tuyến nước bọt có kích thước dài gấp hơn 100 lần (đạt 1000 micron) so với nhiễm sắc thể ở trung kỳ bình thường (có độ dài khoảng 7,5 micron).



Hình 5.7. *Sơ đồ chi tiết bộ thể nhiễm sắc khổng lồ ở tuyến nước bọt Drosophilla*

Ở muỗi lắc *Chironomus,* nhiễm sắc thể đa sợi trong tuyến nước bọt có đường kính 20µm và chiều dài 270µm. Một đặc điểm nữa của cấu trúc nhiễm sắc thể đa sợi không chỉ thể hiện ở kích thước khổng lồ của chúng mà còn thể hiện ở sự tiếp hợp soma (tức là tiếp hợp không qua giảm phân). Đối với ruồi quả, bộ nhiễm sắc thể 2n = 8 gồm 3 cặp tương đồng autosome và 1 cặp giới tính, ở con cái là XX và ở con đực là XY. Nhưng do hiện tượng tiếp hợp soma cho nên trên tiêu bản nhiễm sắc thể đa sợi có cấu tạo rất đặc biệt: gồm 1 dải ngắn và 5 dải

dài tỏa ra từ một thể cố định được gọi là tâm nhiễm sắc (chromocenter) chính là vùng tâm động của các nhiễm sắc thể dính với nhau (hình 5.7). Người ta có thể phân biệt các dải này bằng cách sau: dải ngắn nhất là nhiễm sắc thể thường số 4 là nhiễm sắc thể bé nhất, một dải có chiều dài lớn hơn là nhiễm sắc thể X (đây là bộ nhiễm sắc thể của ruồi cái và 2 nhiễm sắc thể X tiếp hợp với nhau nên trông thành một), còn lại 4 dải dài nhất là 4 vế của các nhiễm sắc thể thường số 2 và số 3. Nếu ta quan sát tiêu bản bộ nhiễm sắc thể của ruồi đực ta sẽ thấy một nhiễm sắc thể X, còn nhiễm sắc thể Y rất khó phát hiện vì chúng thường bắt màu kém và lẫn vào vùng tâm nhiễm sắc. Cần chú ý là trên hình vẽ cánh (vai) phải của nhiễm sắc thể số 2 có chỗ tạo nên hình vòng là vùng mà 2 nhiễm sắc thể tương đồng không tiếp hợp, tách rời nhau. Người ta đã theo dõi được sự hình thành các nhiễm sắc thể đa sợi từ các tiền thân soma của chúng. Qua giai đoạn S của gian kỳ, ADN được tái bản, các sợi nhiễm sắc trong nhiễm sắc thể đều được nhân đôi và trong trường hợp bình thường ở các mô của cơ thể dẫn tới mỗi nhiễm sắc thể đều được nhân đôi, nghĩa là mỗi nhiễm sắc thể đều gồm 2 nhiễm sắc tử chị em (khi đó 2n = 8 x 2) và đến hậu kỳ và mạt kỳ phân bào, các nhiễm sắc tử chị em sẽ phân ly về 2 tế bào con, do đó mỗi tế bào con lại có bộ nhiễm sắc thể 2n = 8 đặc trưng cho ruồi quả. Nhưng trong các tế bào tuyến nước bọt của ấu trùng ruồi, do một cơ chế nào đó, ADN được tái bản rất nhiều lần và tích lại trong nhiễm sắc thể dẫn tới tăng cao số lượng sợi nhiễm sắc trong từng nhiễm sắc thể (tạo nên nhiễm sắc thể đa sợi), trong lúc đó số lượng nhiễm sắc thể của bộ vẫn giữ nguyên (2n = 8) (ví dụ ở ruồi quả, số lượng sợi nhiễm sắc trong mỗi nhiễm sắc thể đạt tới 1024 sợi).

Một đặc điểm nữa trong cấu trúc của nhiễm sắc thể đa sợi là cấu trúc đĩa. Trên tiêu bản ta có thể quan sát thấy rõ là mỗi vế của thể nhiễm sắc đều có xen kẽ các đĩa nhuộm màu sẫm được gọi là đĩa Balbiani (do ông Balbiani phát hiện). Ví dụ, thể nhiễm sắc X có đến 1000 đĩa và người ta đã tính được tất cả các nhiễm sắc thể có đến 5000 - 6000 đĩa. Trước đây người ta cho rằng, các đĩa là tương ứng với số gen có trong bộ nhiễm sắc thể của ruồi quả, nhưng khi nghiên cứu kỹ cấu trúc siêu vi và phân tử cũng như chức năng của nhiễm sắc thể đa sợi thì các đĩa chỉ là thể hiện trạng thái hoạt động khác nhau của tập hợp các họ gen trong hệ gen (genome). Điều lý thú là nhiễm sắc thể đa sợi thay đổi về độ lớn và cấu trúc đĩa theo sự phát triển của ấu trùng qua các giai đoạn. Khi ấu trùng chuyển từ giai đoạn II sang

giai đoạn III, các nhiễm sắc thể đa sợi không chỉ to ra, dài ra, đạt kích thước tối đa mà cấu trúc của các đĩa cũng bị biến đổi. Các đĩa được nở rộng phình ra, người ta nói là chúng được "búp" hóa (tạo nên các búp hoa-puff). Nơi các đĩa được búp hóa là nơi ở đó các sợi nhiễm sắc được mở xoắn và các gen đang hoạt động, nghĩa là đang xảy ra sự phiên mã (tổng hợp ARN) và dịch mã (tổng hợp protein). Nhiều nghiên cứu thực nghiệm đã chứng minh rằng, hoocmon *ecdison* có tác dụng làm búp hóa các nhiễm sắc đa sợi (có tác dụng hoạt hóa các gen) phục vụ cho quá trình biến thái từ giai đoạn ấu trùng sang giai đoạn nhộng của bọn sâu bọ 2 cánh.

Nhiễm sắc thể đa sợi không chỉ được quan sát thấy ở trong mô tuyến nước bọt của bọn sâu bọ 2 cánh mà còn được quan sát thấy trong nhiều loại mô khác nhau ở nhiều động vật và thực vật khác nhau. Ví dụ, trong các mô ruột giữa, trực tràng, ống Manpighi, mô dinh dưỡng của buồng trứng...

– Lệch bội (Aneuploid):

Hiện tượng lệch bội xảy ra khi có sự thay đổi số lượng nhiễm sắc thể ở một cặp nào đó dẫn đến thay đổi làm tăng thêm, hoặc bớt đi một số nhiễm sắc thể trong bộ. Ví dụ bộ lưỡng bội 2n khi có một cặp nào đó không phải là 2 mà là 3 ta sẽ có lệch bội thể ba 2n + 1 (trisomi), và khi có 1 cặp nào đó không phải là 2 mà chỉ là 1 ta sẽ có lệch bội thể một 2n – 1 (monosomi). Trường hợp khi một nhiễm sắc thể bị mất hẳn 1 vế (vai) vẫn được xem là lệch bội.

Trường hợp lệch bội được phát hiện đầu tiên là ở cà độc dược (*Datura stramonium*). Loài cà lưỡng bội 2n = 24 có 12 cặp nhiễm sắc thể. Người ta quan sát thấy có đến 12 dòng đột biến khác nhau. Khi nghiên cứu bộ nhiễm sắc thể của 12 dòng đột biến thì chúng đều có liên quan đến thể ba (2n+1) của một trong 12 cặp nhiễm sắc thể (tức 24+1 = 25).

Lệch bội được phát sinh do nhiều cơ chế như sự phân ly không cân bằng của các thành viên trong cặp tương đồng về giao tử qua giảm phân (ví dụ một giao tử có cả 2 nhiễm sắc thể, còn giao tử kia không có; nếu giao tử mang 2 nhiễm sắc thể được thụ tinh với giao tử bình thường mang 1 nhiễm sắc thể sẽ tạo nên hợp tử mang 3 nhiễm sắc thể, tức là thể ba; nếu giao tử bình thường mang 1 nhiễm sắc thể thụ tinh với giao tử không mang nhiễm sắc thể sẽ tạo nên thể một). Lệch bội cũng có thể được hình thành qua nguyên phân do sự trục

trặc nào đó trong cơ chế phân ly nhiễm sắc thể, ví dụ, sự đào thải của nhiễm sắc tử khi phân ly và như vậy nhiễm sắc tử đó không được chuyển về hai cực.

Sự phân ly không cân bằng của các thành viên trong cặp tương đồng qua giảm phân dẫn tới tạo thành lệch bội được các nhà di truyền tế bào nghiên cứu kỹ, thể hiện ở bảng 5.3 sau đây:

Bảng 5.3. Sự tổ hợp dị thường trong các hợp tử do sự phân ly không cân bằng của cặp nhiễm sắc thể giới tính

Tinh trùng / Trứng	Giảm phân bình thường		Không phân ly trong giảm phân I		Không phân ly trong giảm phân II		
	X	Y	XY	0	XX	0	YY
Giảm phân bình thường X	XX	XY	XXY	X0	XXX	X0	XYY
Không phân ly trong giảm phân I hoặc II XX	XXX	XXY	XXXY	XX0	XXXX	XX0	XXYY
0	X0	Y0	XY0	00	XX0	00	YY0

Ghi chú: Các tổ hợp OO, YO và YY chắc chắn là không có khả năng sống, còn các tổ hợp bất thường khác đều là bệnh lý.

Như vậy, dạng lệch bội 2n + 1 được gọi là thể ba (trisomi) tức là trường hợp có một cặp nhiễm sắc thể trong bộ bị tăng lên 3, được xem là ưu bội (hyperploid). Trường hợp 2n – 1 tức là trong bộ có 1 cặp chỉ còn 1 nhiễm sắc thể, được gọi là thể đơn (monosomi) và được xem là nhược bội (hypoploid).

+ Hiện tượng thể ba:

Người ta đã nghiên cứu kỹ hiện tượng thể ba ở cà độc dược, ngô, cà chua thuốc lá và ruồi quả. Các cơ thể mang thể ba có kiểu hình rất đặc thù. Đối với ruồi quả thường xảy ra thể ba ở nhiễm sắc thể số 4, chúng vẫn có sức sống. Sự phân ly của các tính trạng trong thế hệ con của những ruồi này là có cơ sở ở sự phân ly các nhiễm sắc thể khi không có sự đào thải các giao tử không cân bằng. Cho nên nếu cố con

ruồi cái với 3 thể nhiễm sắc số 4 mang những gen ++ ey (eyless - không mắt) được tạp giao với ruồi đực ey ey thì tỷ lệ ở thế hệ con sẽ là 5+: 1 ey. Tỷ số này là kết quả của phân ly của nhiễm sắc thể số 4 có 3 chiếc với sự tạo thành bốn kiểu giao tử theo tỷ lệ 2+: 2+ey: 1++: 1 ey. *Đối với thực vật, các hạt phấn mang bộ nhiễm sắc thể không cân* bằng, hoặc hoàn toàn không tham gia vào quá trình thụ phấn vì không mọc ống phấn, hoặc trong trường hợp ống phấn mọc được chúng cũng mọc chậm nên không thể cạnh tranh với các ống phấn mọc bình thường. Đối với cây ngô chỉ có khoảng 1-2% hạt phấn mang *thể ba cho ra thế hệ con, nhưng đối với tế bào trứng thì số lượng này* đạt tới 25-50%. Những nhiễm sắc thể dư thừa có thể bị mất đi do chúng không tham gia vào trao đổi chéo hoặc do sự phân ly chậm trễ ở hậu kỳ nên không có mặt trong nhân tế bào con. Sự mất đi nhiễm sắc thể dư như vậy dẫn đến làm tăng tần số các giao tử đơn bội bình thường. *Sự nghiên cứu các thể ba ở cây cà độc dược có ý nghĩa đặc* biệt. Cà độc dược *Datura* có 2n = 12 và như trên đã nói có thể có đến 12 dạng thể ba. Người ta đã phát hiện ra là mỗi dạng thể ba có kiểu hình đặc trưng cho phép phân biệt dễ dàng chúng với nhau.

Các nhà nghiên cứu di truyền tế bào người đã phát hiện nhiều *trường hợp lệch bội và có liên quan đến nhiều hội chứng bệnh. Ví* dụ, ở người từ năm 1866, Langdon Down đã quan sát thấy hội chứng ngu đần được gọi là hội chứng Down. Hội chứng Down được quan sát thấy với tần số 1/700 trẻ sơ sinh và là hội chứng do sai lệch nhiễm sắc thể được bắt gặp cao nhất. Hội chứng lâm sàng thể hiện ở *chỗ: cơ thể thấp bé, đầu bé, chẩm dẹt, lỗ mũi rộng, lưỡi dày có xu thế* thò ra ngoài, vành tai biến dạng, ngón tay ngắn biến dạng, đường vân tay thay đổi rõ rệt, nhược cơ, khớp lỏng và chậm phát triển trí tuệ. Năm 1959, Lejeune đã lần đầu tiên mô tả cơ sở nhiễm sắc thể của hội chứng Down có bộ nhiễm sắc thể lệch bội thể ba ở nhiễm sắc thể 21, *và như vậy 2n của họ là 2n+1 = 47 trong đó cặp 21 có đến ba* chiếc thay vì hai chiếc như bình thường. Một trong những nguyên nhân là tuổi mẹ đã quá cao (từ 35 đến 44 tuổi) gây ảnh hưởng đến sự không phân ly của cặp nhiễm sắc thể 21 về giao tử, vì vậy có giao tử chứa 2 nhiễm sắc thể và khi chúng thụ tinh với giao tử bình *thường chứa 1 nhiễm sắc thể sẽ tạo thành hợp tử chứa thể ba về* nhiễm sắc thể 21.

Hiện tượng thể ba ở người còn quan sát thấy ở các cặp nhiễm sắc

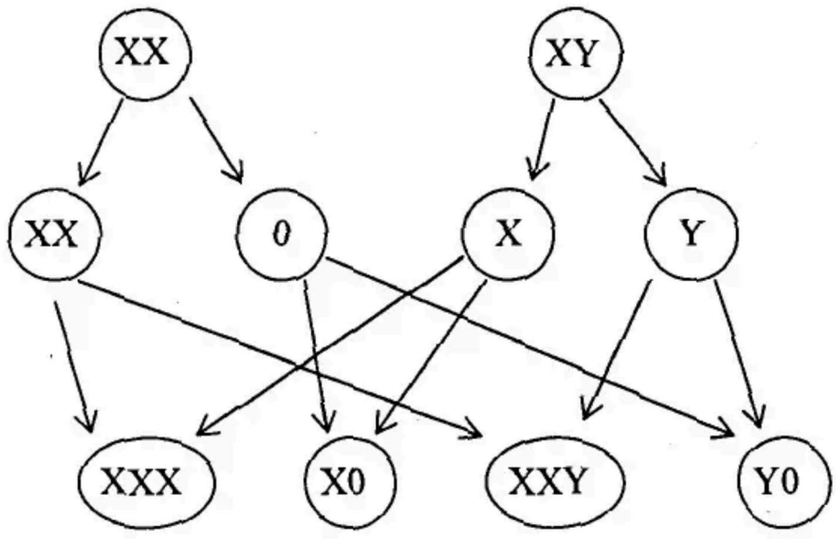
thể khác trong bộ. Ví dụ, thể ba 18 (hội chứng Edwards), thể ba 13 (hội chứng Patau), v.v...

Thể ba không chỉ gặp ở các cặp nhiễm sắc thể thường mà còn gặp ở nhiễm sắc thể giới tính. Ví dụ hội chứng Klinefelter gặp ở nam giới (được mô tả bởi H.F.Klinefelter năm 1942) có kiểu gen 2n+1=47, trong đó cặp nhiễm sắc thể giới tính có 3 chiếc là XXY (được Jacob và Strong chứng minh năm 1959). Trong trường hợp hội chứng siêu nam thì kiểu gen là XYY. Người ta cũng quan sát thấy hội chứng thể ba đối với nữ giới có kiểu gen là XXX. Các chàng trai XYY và các cô gái XXX đa số sinh con bình thường.

+ Hiện tượng thể một:

Các cơ thể mang thể một là do có sự mất đi một trong một số các nhiễm sắc thể trong bộ lưỡng bội, do đó thể một thường gây hại nhiều hơn so với thể ba. Thường thì trường hợp thể một cũng hiếm quan sát thấy và nếu có chúng thường không có sức sống.

Các hội chứng thuộc thể một (2n-1) cũng quan sát thấy ở người. Ví dụ, hội chứng Turner (do H. Turner mô tả vào năm 1938) quan sát thấy ở nữ giới. Năm 1959, Ford đã xác định các cô gái bị hội chứng Turner có kiểu gen 2n-1 = 45 trong đó thể đơn thuộc nhiễm sắc thể X (kiểu gen X0) (hình 5.8). Người bệnh thường thấp bé, thừa da ở gáy, mặt hình tam giác, mi sụp, mép sệ, lẹm cằm, tai thấp, tuyến sinh dục không phát triển và vô sinh. Trong nhân tế bào niêm mạc miệng không có thể Barr với kiểu gen X0, còn đối với kiểu gen thể ba XXX



Hình 5.8. Sơ đồ về sai lệch trong phân ly của các cặp NST giới tính XX qua giảm phân

thì trong nhân tế bào niêm mạc miệng có đến 2 thể Barr. Như vậy, căn cứ vào test thể Barr người ta có thể xác định được các thể ba XXX, XYY và thể đơn X0. Đối với hội chứng "tiếng mèo kêu" (người bệnh phát ra tiếng giống tiếng mèo kêu và kèm theo trí khôn chậm phát triển) thì kiểu nhân 2n=46 nhưng vẫn được các nhà di truyền người liệt kê vào hội chứng thể một 5p (Monosomi 5p) vì có một nhiễm sắc thể số 5 bị mất đi 1 vế (vai) là vế p.

Bảng 5.4. Liệt kê các dạng lệch bội do không phân ly ở người

Kiểu nhân	Công thức NST	Hội chứng lâm sàng	Tần số gặp	Kiểu hình
47, +21	2n+1	Down	1/700	Tay ngắn với bàn tay to, ngắn, khớp lỏng, đần, đầu to mặt tròn, mồm loe, lưỡi dài.
47, +13	2n+1	Patau	1/20000	Đần, điếc, teo cơ, sứt môi, tim dị dạng, gót lồi to.
47, +18	2n+1	Edward	1/8000	Dị dạng bẩm sinh ở nhiều cơ quan, đần, 90% chết ở tháng thứ 6 sau khi sinh.
45, X	2n-1	Turner	1/2500 lần sinh con gái.	Con gái với cơ quan sinh dục chậm phát triển, lùn, vô sinh, da cổ nhăn nheo, dị dạng tim mạch, nghễnh ngãng.
47, XXY 48, XXXY 48, XXYY 49, XXXXY 50, XXXXXY	2n+1 2n+2 2n+2 2n+3 2n+4	Klinefelter	1/500 lần sinh con trai	Con trai với tinh hoàn bé, vú phát triển, giọng nữ, đầu gối nhô, tay chân dài.
47, XXX	2n+1	Triplo-X	1/700	Con gái với cơ quan sinh dục bình thường, sinh sản bị hạn chế, trí khôn giảm nhẹ.

– Nhiễm sắc thể phụ:

Một kiểu lệch bội khác là sự xuất hiện thêm trong bộ nhiễm sắc

thể các nhiễm sắc thể phụ. Dạng lệch bội này cũng khá phổ biến trong giới Thực vật cũng như giới Động vật. Các cơ thể mang dạng lệch bội này chịu đựng khá tốt sự có mặt của các nhiễm sắc thể phụ, chắc rằng vì chúng thường ở trạng thái dị nhiễm sắc. Nhưng khi số lượng các nhiễm sắc thể phụ khá nhiều, ví dụ ở lúa (có thể đến 6) sẽ dẫn đến sự phát triển yếu ớt của cây và giảm sản lượng. Sự có mặt các nhiễm sắc thể phụ ở cây mã đề *Plantago coronapus* gây nên những hậu quả di truyền nghiêm trọng: tất cả những cây mang nhiễm sắc thể phụ đều có tính bất thụ đực. Nhiều trường hợp các nhiễm sắc thể phụ chỉ có trong một số mô, ví dụ có trong hoa mà không có trong các mô rễ, điều có gợi ý rằng chúng có thể có một vai trò chức năng nào đó liên quan đến sinh sản.

b) Đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể

Mỗi một loài được đặc trưng không chỉ bởi số lượng nhiễm sắc thể trong bộ mà còn đặc trưng bởi cấu trúc của từng nhiễm sắc thể của bộ. Ví dụ, loài *Drosophila melanogaster* có 4 cặp nhiễm sắc thể trong đó có một cặp nhiễm sắc thể giới tính (sex chromosome) và ba cặp nhiễm sắc thể thường (autosome), gồm 2 cặp nhiễm sắc thể cân tâm (metacentric chromosome) và một cặp nhiễm sắc thể hình chấm bé, còn loài *Drosophila virilis* có 6 cặp nhiễm sắc thể trong đó có 1 cặp nhiễm sắc thể giới tính và 4 cặp nhiễm sắc thể thường mút tâm (acrocentric chromosome) và 1 cặp nhiễm sắc thể thường hình chấm. Như vậy, các loài thuộc cùng một chi có thể có số lượng và cấu trúc nhiễm sắc thể khác nhau, và trong quá trình tiến hoá đã xảy ra sự sắp xếp và tổ chức lại bộ nhiễm sắc thể. Các nhà di truyền tế bào thường xác định các dạng đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể sau đây:

– Mất đoạn (deletion):

Là trường hợp một đoạn nào đó của nhiễm sắc thể bị đứt ra và mất đi, và hậu quả là nhiễm sắc thể bị mất đi một số gen (ADN) mà đoạn đó chứa. Ví dụ, một nhiễm sắc thể có các đoạn ABCDEGH, khi bị đứt gãy ở giới hạn đoạn E và G thì sẽ gây mất đoạn GH và nhiễm sắc thể chỉ còn lại các đoạn ABCDE và đoạn bị mất là đoạn GH. Nếu đoạn mất là đoạn cuối của nhiễm sắc thể thì đoạn đó sẽ không có tâm động, ví dụ đoạn GH, nên thường không phân ly được về hai cực và sẽ bị phân huỷ; còn khi nhiễm sắc thể bị đứt và mất cả hai đoạn mút thì hai đầu sẽ dính liền với nhau tạo nên nhiễm sắc thể vòng. Tuỳ theo đoạn mất có chứa nhiều gen quan trọng hay không sẽ gây ảnh hưởng

nhiều hay ít đến sự biểu hiện tính trạng của cơ thể. Tuỳ theo độ dài của đoạn mất, người ta chia đoạn mất lớn, đoạn mất vừa, đoạn mất bé. Đoạn mất lớn thường gây chết cho cơ thể. Đoạn mất vừa sẽ gây chết ở trường hợp đồng hợp tử và có khả năng sống ở trường hợp dị hợp tử. Đoạn mất nhỏ có thể tồn tại ở trạng thái đồng hợp và gây ảnh hưởng lên kiểu hình giống với đột biến gen nhưng sai khác ở chỗ chúng không có tính đột biến ngược chiều.

Hậu quả ảnh hưởng lên kiểu hình của mất đoạn được xác định bởi các nguyên nhân sau:

+ Mất hẳn chức năng của một số gen.

+ Thay đổi số lượng vật chất di truyền (ADN).

+ Phá huỷ sự cân bằng gen và điều chỉnh trong hệ gen.

Tế bào và cơ thể có mất đoạn lớn thường gây ảnh hưởng tới sự hoạt động chức năng của tế bào và sự phát triển của phôi, do đó gây chết tế bào và cho cơ thể.

Người ta có thể phát hiện các mất đoạn nhờ các phương pháp nghiên cứu tế bào học qua kiểu nhân (caryotype), hoặc phương pháp di truyền học qua lai thể đột biến với kiểu dại. Đối với ruồi quả có thể phát hiện mất đoạn qua hiện tượng hình thành các vòng không tiếp hợp của nhiễm sắc thể đa sợi. Ví dụ, ở vế phải của nhiễm sắc thể số 2 ta thấy một vòng ở gần vùng tâm nhiễm sắc (hình 5.7), ở đây ta thấy vì có một đoạn nhiễm sắc thể đã bị mất đi nên không có sự bắt cặp và cơ thể ở dạng dị hợp về mất đoạn.

Đối với thực vật, ở đại đa số trường hợp mất đoạn là yếu tố gây chết cho thể giao tử (gametophyte) dẫn đến tạo thành các hạt phấn rụng sớm. Trong trường hợp nếu mất đoạn thông qua thể giao tử chuyền lại được cho thế hệ lưỡng bội tiếp theo thì hình như chúng chỉ gây hại đến các locut của các gen mà thiếu chúng thì chức năng của hạt phấn vẫn không bị tác hại. Người ta đã chứng minh rằng, ở thực vật, các nhiễm sắc thể mất đoạn được bảo tồn qua dòng cái, còn đối với dòng đực các nhiễm sắc thể mất đoạn thường bị loại trừ do sự hình thành các hạt phấn không có sức sống, hoặc do những hạt phấn mang chúng sẽ không có khả năng cạnh tranh sinh trưởng với các hạt phấn bình thường.

Đối với động vật, ví dụ đối với ruồi quả *Drosophila*, các cá thể đồng hợp tử về mất đoạn ở nhiễm sắc thể X còn sức sống chỉ trong

trường hợp đoạn mất chỉ là một phần nhỏ của tiết mút (telomere). Sự mất các gen yellow, achaete và scute rõ ràng là không dẫn đến mất sức sống kể cả trong trường hợp đồng hợp tử hoặc bán hợp tử (hemizygote), vì các gen này chỉ chiếm một phần rất nhỏ và chắc rằng chúng không có vai trò quyết định về sức sống của ruồi.

Đối với cơ thể người thì các mất đoạn gây nên nhiều dị hình bẩm sinh, ví dụ, bệnh căn của bệnh bạch cầu tủy mãn tính là có liên quan đến nhiễm sắc thể được gọi là nhiễm sắc thể Philadelphia (Ph^1), đó là nhiễm sắc thể 21 đã bị mất một phần lớn của vế dài. Hội chứng "tiếng mèo kêu " như phần trên đã nói có liên quan đến sự mất vế ngắn của nhiễm sắc thể số 5 (cũng được liệt kê vào dạng lệch bội thể một 5p).

– Nhân đoạn hoặc thêm đoạn (duplication):

Là trường hợp một đoạn nào đó của nhiễm sắc thể được nhân lên gấp đôi hoặc nhiều lần. Đoạn được nhân lên có thể ở bất cứ vị trí nào hoặc chen vào giữa hoặc ở phần cuối nhiễm sắc thể. Các nhà di truyền tế bào cho rằng nhân đoạn có ý nghĩa quan trọng đối với tiến hoá, vì lẽ rằng các kiểu gen được phức tạp hoá là do hiện tượng nhân đoạn nhiễm sắc thể. Ví dụ, nhiễm sắc thể ABCDEGH, khi có thêm đoạn EG sẽ trở thành ABCDEGEGH. Hiện tượng nhân đoạn có thể xảy ra do sự nhân lên của một đoạn nào đó trong nhiễm sắc thể hoặc do hai nhiễm sắc thể tương đồng bắt cặp và trao đổi đoạn cho nhau, kết quả một nhiễm sắc thể mất đoạn và một nhiễm sắc thể tương ứng thêm đoạn. Cơ thể có nhân đoạn ít bị ảnh hưởng hơn so với mất đoạn, tuy nhiên, nếu đoạn thêm lớn sẽ gây ảnh hưởng đến sức sống của cơ thể. Hiện tượng nhân đoạn được nghiên cứu nhiều ở ruồi quả, ví dụ, đột biến Bar (có mắt hình sọc ngang thay cho hình cầu) là dạng đột biến trội liên kết giới tính X, từ những năm 1930, C. B. Bridges đã phân tích nhiễm sắc thể X mang đột biến Bar và phát hiện thấy rằng, đoạn 16A, nơi chứa gen quy định hình dạng mắt ruồi trong nhiễm sắc thể X đã bị nhân đôi lên. Ở ruồi quả, các đột biến trội thể hiện cánh nhiều lông (Hairy Wing), hoặc đột biến mắt bé (Asteroid) đều do hiện tượng nhân đoạn gây nên. Người ta đã phát hiện được đột biến nhân ba đoạn 16A và ruồi mang đột biến có mắt rất bé được gọi là đột biến Bar kép. Người ta dễ dàng phát hiện đột biến nhân đoạn ở ruồi quả thông qua bộ nhiễm sắc thể đa sợi. Ngày nay với kỹ thuật phân tích phân tử, người ta dễ dàng phát hiện các đột biến nhân đoạn, mất đoạn rất bé ở

hàng loạt cơ thể khác nhau. Ví dụ, sự phân tích các nhân đoạn trong họ gen mã hóa cho protein hemoglobin ở động vật có vú.

Hiện tượng nhân đoạn tương đối phổ biến và có vai trò là nguồn biến dị di truyền đáng kể của tiến hóa.

– Đảo đoạn (inversion):

Là trường hợp một đoạn nào đó của nhiễm sắc thể bị đứt và quay ngược 180^0, rồi nối lại, dẫn đến thay đổi sự sắp xếp của gen trong đoạn đó. Ví dụ, nhiễm sắc thể ABCDEGH khi bị đảo đoạn ở DEG sẽ trở thành ABCGEDH. Đảo đoạn có thể xảy ra do sự di chuyển của các gen nhảy (transposons) từ nhiễm sắc thể này sang nhiễm sắc thể khác. Như vậy, để xảy ra đảo đoạn phải có hai điểm đứt, còn khi chỉ có một điểm đứt ở đoạn mút có thể xảy ra đảo đoạn nhưng rất hiếm. Người ta phân biệt 2 dạng đảo đoạn:

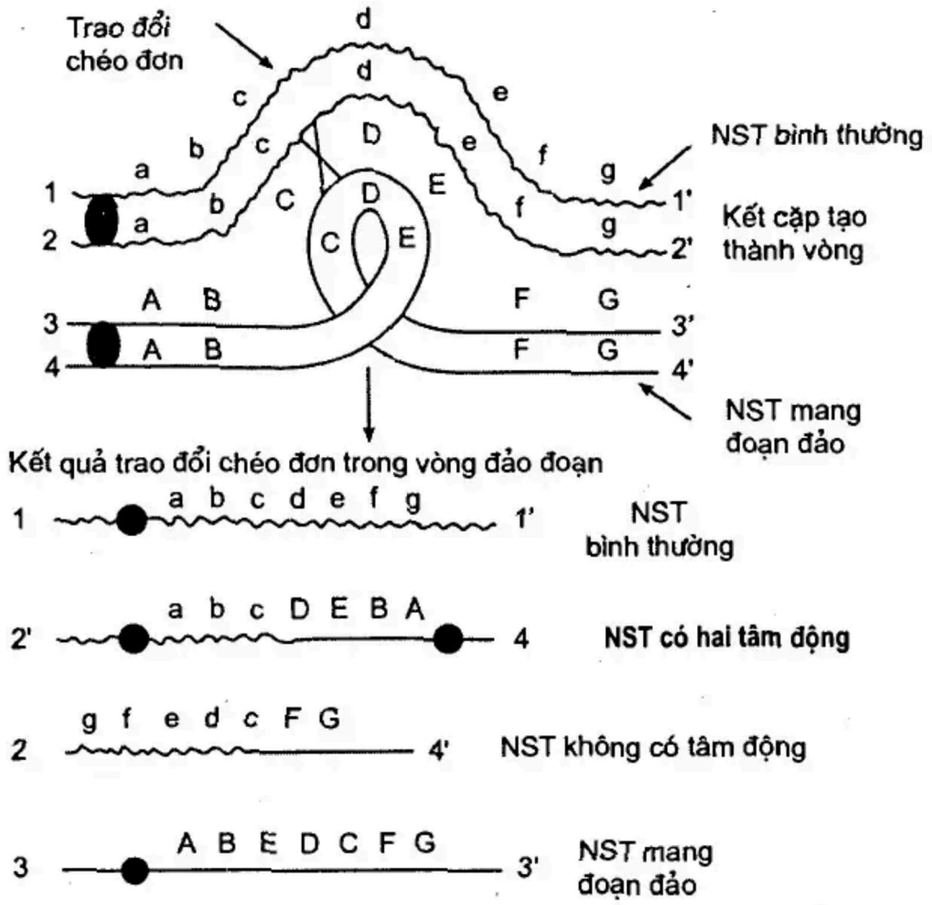
+ Đảo đoạn ngoại tâm (đảo đoạn không đối xứng) là trường hợp đoạn đảo không bao gồm tâm động.

+ Đảo đoạn quanh tâm (đảo đoạn đối xứng) là trường hợp đoạn đảo có mang tâm động.

Đảo đoạn có thể ở trạng thái đồng hợp tử hoặc dị hợp tử. Khi ở trạng thái đồng hợp tử hoặc bán hợp tử thì đảo đoạn thường gây ảnh hưởng chết cho cơ thể, vì lẽ rằng làm thay đổi vị trí của các gen (hiệu ứng vị trí) và đứt gãy nhiễm sắc thể sẽ dẫn tới gây chết.

Khi ở trạng thái dị hợp tử thì đảo đoạn gây nên một số thay đổi về di truyền và tế bào, do đó người ta có thể dễ dàng phát hiện ra đoạn đảo. Khi có đảo đoạn ngoại tâm sẽ không làm thay đổi vị trí 2 vế, còn khi có đảo đoạn quanh tâm sẽ dẫn đến thay đổi vế của nhiễm sắc thể, có thể biến nhiễm sắc thể mút tâm (acrocentrric chromosome) thành nhiễm sắc thể cân tâm (metacentric chromosome) và ngược lại.

Trong các quần thể thực vật (ví dụ lúa mạch), hoặc động vật (ruồi quả) thường gặp ở các dạng đảo đoạn với tần số cao, tuy nhiên đa số đều ở trạng thái dị hợp nên không gây chết. Trong trường hợp đảo đoạn ở trạng thái dị hợp, người ta có thể phát hiện được chúng bằng phương pháp di truyền học, hoặc tế bào học. Người ta có thể phát hiện được hiện tượng đảo đoạn thông qua sự tạo thành các nút vòng đặc trưng trong tiền kỳ giảm phân I khi các nhiễm sắc thể tương đồng bắt cặp. Các nút vòng đó thể hiện sự đảo đoạn dị hợp (hình 5.9).



Hình 5.9. *Hiện tượng đảo đoạn và trao đổi chéo diễn ra khi có đảo đoạn*

Người ta cũng dễ dàng phát hiện được đảo đoạn thông qua các kiểu nhân nhuộm cắt băng, hoặc thông qua các nút vòng của nhiễm sắc thể đa sợi.

Đảo đoạn có vai trò nhất định trong tiến hóa. Nghiên cứu phân tích về đảo đoạn trên các loài ruồi quả thuộc chi *Drosophila* của Dowjansky đã chứng minh rõ vai trò của đảo đoạn trong sự phân hóa của loài trong các quần thể khác nhau.

– Chuyển đoạn (translocation):

Là hiện tượng thay đổi trong cấu trúc nhiễm sắc thể khi một nhiễm sắc thể có đoạn bị đứt và được nối kết vào một thể nhiễm sắc khác không tương đồng. (Cần phân biệt với hiện tượng trao đổi chéo qua giảm phân là trao đổi đoạn giữa 2 thành viên trong cặp tương đồng). Ví dụ, có 2 nhiễm sắc thể không tương đồng là ABCDEGH và A'B'C'D'E'G'H', khi có chuyển đoạn chéo ở đoạn EG và E'G' ta sẽ có 2 nhiễm sắc thể chuyển đoạn là ABCDE'G'H và A'B'C'D'EGH'. Chuyển đoạn có thể xảy ra do sự di chuyển của các gen nhảy từ một nhiễm

sắc thể này sang nhiễm sắc thể khác. Hậu quả của chuyển đoạn là làm thay đổi nhóm gen liên kết trong nhiễm sắc thể. Người ta phân biệt các dạng chuyển đoạn sau đây:

+ Chuyển đoạn chéo là trường hợp có sự chuyển một đoạn của một nhiễm sắc thể này sang một nhiễm sắc thể khác và xảy ra trao đổi chéo các đoạn giữa 2 nhiễm sắc thể không tương đồng (có khi có thể là giữa 2 nhiễm sắc thể tương đồng).

+ Chuyển đoạn đơn tâm và chuyển đoạn hai tâm. Chuyển đoạn đơn tâm là khi đoạn chuyển vẫn giữ nguyên thứ tự các locut như cũ so với tâm động, còn chuyển đoạn hai tâm là khi đoạn chuyển quay 180^0 so với tâm động.

+ Chuyển đoạn đối xứng và không đối xứng: chuyển đoạn đối xứng là trường hợp sau khi nối các đoạn chuyển sẽ tạo nên hai nhiễm sắc thể đơn tâm, còn chuyển đoạn không đối xứng là khi nối các đoạn chuyển sẽ tạo nên một nhiễm sắc thể hai tâm và một nhiễm sắc thể không có tâm động.

+ Chuyển đoạn nhiễm sắc thể và chuyển đoạn nhiễm sắc tử là trường hợp chuyển đoạn xảy ra ở mức nhiễm sắc thể toàn vẹn khi chưa được nhân đôi; hoặc xảy ra ở mức nhiễm sắc tử (tức là nhiễm sắc thể đã được nhân đôi cho ra các nhiễm sắc tử).

+ Chuyển đoạn nêm là khi đoạn chuyển được nối xen vào đoạn giữa nhiễm sắc thể.

+ Chuyển đoạn bên là khi đoạn chuyển từ một nhiễm sắc thể này được nối vào bên cạnh nhiễm sắc thể khác.

+ Chuyển đoạn vòng là khi có sự chuyển đoạn của ba nhiễm sắc thể khác nhau xảy ra theo kiểu thay thế đoạn chuyển chứ không phải trao đổi chéo.

Như vậy, hiện tượng chuyển đoạn xảy ra rất đa dạng và người ta rất khó phát hiện và phân biệt. Đối với thực vật, chuyển đoạn có thể gây chết hoặc có sức sống, nhưng đối với động vật (ruồi quả) thì chuyển đoạn thường gây chết cho hợp tử hoặc ở giai đoạn phôi sớm.

Các nhà di truyền tế bào thường sử dụng các đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể để lập bản đồ gen. Ví dụ, căn cứ vào đột biến chuyển đoạn chéo giữa nhiễm sắc thể số 14 với nhiễm sắc thể X ở người, các nhà di truyền học đã xác lập được gen HPRT (gen mã hoá cho enzim hypoxantin photphoribosyl transferaza) định khu trong vế dài của nhiễm sắc thể X. Một trong những thành tựu đáng chú ý của di truyền y học gần đây là sự phát hiện ra gen gây nên hội chứng nhược

cơ Duchen ở người là gen DMD (Duchene muscular dystrophy). Hội chứng nhược cơ Duchen là bệnh thần kinh cơ rất nguy hiểm. Bệnh bắt đầu từ 6 tuổi và thường chết ở tuổi từ 12 - 20.

Các nhà di truyền tế bào học đã phát hiện bệnh là do đột biến chuyển đoạn của nhiễm sắc thể X sang nhiễm sắc thể số 5, và khi nghiên cứu so sánh nhiễm sắc thể X bình thường bất hoạt với nhiễm sắc thể X bị chuyển đoạn trở thành hoạt động, họ đã xác định được vị trí định khu của gen DMD ở vùng P21 của nhiễm sắc thể X.

c) Các nhân tố gây đột biến nhiễm sắc thể

Các nhân tố gây đột biến nhiễm sắc thể có thể là nhân tố vật lý như bức xạ ion hoá, bức xạ tử ngoại, nhiệt v.v..., có thể là nhân tố hoá học.

Có nhiều dạng bức xạ tác động lên tế bào và cơ thể trong điều kiện tự nhiên và trong điều kiện *invitro* như tia tử ngoại, tia Rơnghen, tia α, β, γ, các proton, các neutron. Khi tế bào và cơ thể bị chiếu xạ, nhiều quá trình thay đổi đảo ngược và không đảo ngược xảy ra như sự hoại tử nhân, dính kết nhiễm sắc thể, phân đoạn nhiễm sắc thể, hình thành nhân khổng lồ, tế bào đa nhân, sai lệch phân ly nhiễm sắc thể về nhiều cực tạo nên các tế bào lệch bội.v.v...

Tần số và đặc tính của các đột biến nhiễm sắc thể tuỳ vào liều chiếu xạ và vào giai đoạn của chu kỳ tế bào bị chiếu xạ, tức là tuỳ vào giai đoạn G1 - giai đoạn khi nhiễm sắc thể chưa nhân đôi, ở giai đoạn G2 và phân bào - giai đoạn mà ở đó nhiễm sắc thể đã được nhân đôi. Tần số và mức độ đột biến nhiễm sắc thể còn tuỳ thuộc vào thời gian chiếu xạ. Tác hại của chiếu xạ gây nên các đứt gãy nhiễm sắc thể, do đó gây nên các mất đoạn (deletion) và qua thời gian chiếu xạ sẽ xảy ra các đột biến khác như nhân đoạn, đảo đoạn và chuyển đoạn. Tác hại của chiếu xạ cũng có thể gây nên các trao đổi đoạn giữa các nhiễm sắc thể, do đó tạo nên các đột biến chuyển đoạn. Đặc tính nhạy cảm phóng xạ của các cơ thể khác nhau thì khác nhau, ví dụ, liều gây chết đối với một số khuẩn là 6.10^6 r, còn đối tượng động vật chỉ vài trăm r.

Để gây được đột biến nhiễm sắc thể ở thực vật bậc cao (ví dụ đối với *Vicia* và *Lilium*) chỉ cần chiếu xạ với liều 20r là đủ, còn đối với động vật đơn bào có roi chiếu xạ với liều 20000r vẫn chưa gây được đột biến. Đối với các mô khác nhau tính nhạy cảm với chiếu xạ cũng khác nhau, ví dụ, mô tuỷ đỏ xương nhạy cảm hơn mô dịch hoàn.

Đột biến nhiễm sắc thể có thể được gây nên do các nhân tố hoá chất. Ngày nay người ta đã phát hiện nhiều loại hoá chất là tác nhân

gây đột biến như chất iprit, ethylenimin, glixidol, formaldehit, urethan, chlorit aluminium, các hoá chất trừ sâu, diệt cỏ, các hoá chất dùng trong công nghiệp hoá mỹ phẩm, công nghiệp hoá thực phẩm và công nghiệp nhuộm màu.

Vụ nổ bom nguyên tử của Mỹ tại Hirosima và Nagasaki năm 1945 và chất độc màu da cam (chất diệt cỏ 2,4D và 2,4,5T có chứa dioxin) mà đế quốc Mỹ sử dụng trong cuộc chiến tranh xâm lược Việt Nam đã gây cho nhân dân Nhật Bản và nhân dân Việt Nam những hậu quả nặng nề về quái thai, ung thư cũng như đột biến nhiễm sắc thể qua nhiều thế hệ.

IV- HẠCH NHÂN (NUCLEOLUS)

4.1. Hình thái hạch nhân

Trong thời kỳ tế bào không phân chia, bao giờ người ta cũng quan sát thấy hạch nhân. Ở giai đoạn cuối tiền kỳ của tế bào đang phân chia, hạch nhân hòa tan vào trong nhân và biến mất. Đến đầu mạt kỳ, hạch nhân lại được xuất hiện ở dạng các thể dính với nhiễm sắc thể, và gian kỳ tiếp theo hạch nhân trong các tế bào con có liên hệ di truyền với nhiễm sắc thể. Hạch nhân là thành phần có cấu trúc đông đặc nhất của tế bào - ví dụ, khối lượng khô của hạch nhân ở trứng bọn Sao biển đạt tới 90%. Thường thì hạch nhân có hình cầu, hình ô van nhưng cũng có thể biến đổi. Độ lớn của hạch nhân thay đổi tùy theo trạng thái sinh lý của tế bào, chủ yếu là tùy theo cường độ tổng hợp protein. Ở tế bào mà cường độ tổng hợp protein mạnh thường có hoặc hạch nhân lớn, hoặc nhiều hạch nhân, trái lại ở tế bào cường độ tổng hợp protein yếu thì hạch nhân bé hoặc rất khó quan sát thấy. Một trong những đặc tính cơ bản của hạch nhân là đặc tính dễ thay đổi về hình thái, số lượng, hình dạng, độ lớn, về tính chất hóa học phụ thuộc vào trạng thái sinh lý của tế bào. Tính chất dễ thay đổi đó có liên quan đến chức năng của hạch nhân trong tế bào: chức năng tổng hợp rARN. Trong một số trường hợp, số lượng hạch nhân ở trong nhân tương ứng với số lượng bộ nhiễm sắc thể. Trong nhân đơn bội thường có một hạch nhân, trong nhân lưỡng bội có hai hạch nhân và trong nhân tứ bội có 4 v.v... Tất nhiên sự tương ứng đó có thể là ngẫu nhiên vì số lượng hạch nhân thay đổi tuỳ trạng thái sinh lý của tế bào, còn số lượng nhiễm sắc thể thì tương đối cố định, vì vậy dựa vào số lượng hạch nhân để tính số lượng nhiễm sắc thể không thể xem là chính xác được.

4.2. Cấu trúc hiển vi và siêu vi của hạch nhân

Hạch nhân được cấu tạo gồm: chất nhiễm sắc quanh hạch nhân (perinucleolar chromatine) bao quanh một phần hạch nhân, thân hạch nhân (nucleolar body) có hình cầu có đường kính từ 1-2μm. Hạch nhân được cấu trúc từ các sợi và hạt. Sợi có bản chất là các sợi ribonucleoprotein và các sợi deoxiribonucleoprotein. Các hạt có bản chất là ribonucleoprotein và đường kính 15nm: Sợi và hạt được phân bố trong chất đồng dạng. Trong hạch nhân có các trung tâm có cấu trúc sợi deoxiribonucleic trong đó chứa rADN (ADN riboxom - là trung tâm tổ chức hạch nhân của nhiễm sắc thể chịu trách nhiệm tổng hợp rARN).

4.3. Thành phần sinh hóa của hạch nhân

Trong hạch nhân có:

a) ADN hạch nhân: chứa trong chất nhiễm sắc quanh hạch nhân, trong các sợi deoxiribonucleoprotein trong hạch nhân. ADN trong hạch nhân (trong các trung tâm sợi) là ADN từ vùng NOR (nucleolar organizing region - vùng tổ chức hạch nhân) của nhiễm sắc thể.

b) rARN: Trong hạch nhân rARN có trong các sợi và hạt ribonucleoprotein. Có nhiều dạng rARN với hằng số lắng khác nhau như (rARN 45S, rARN 35S, rARN 28S, v.v...), đó là các rARN đang trong quá trình chín để tạo thành rARN của riboxom (loại rARN 28S, rARN 18S, rARN 5,8S...).

c) Protein hạch nhân gồm có histon, protein riboxom.

d) Enzim hạch nhân gồm các enzim ARN polimeraza (để tổng hợp rARN), các enzim chịu trách nhiệm xử lý quá trình chín của các rARN, tức là chế biến rARN 45S thành các rARN chín.

4.4. Vai trò của hạch nhân

a) rARN trong hạch nhân được phiên mã từ ADN hạch nhân.

ADN hạch nhân là một phần của ADN có nguồn gốc từ vùng NOR của nhiễm sắc thể có thể kèm (ví dụ ở người là các nhiễm sắc thể 13, 14, 15, 21 và 22) có chứa các gen mã hóa cho rARN - là những gen lặp. Loại rARN được phiên mã là rARN 45S. Trong hạch nhân rARN 45S sẽ bị xử lý và chế biến thành các loại rARN khác nhau để cấu tạo nên riboxom.

b) Các tiền riboxom trong hạch nhân: được tạo thành bằng

cách liên kết các rARN với protein riboxom. Protein riboxom được tổng hợp trong tế bào chất sau đó được chuyển vào nhân và hạch nhân. Các dạng tiền riboxom trong hạch nhân là đơn vị nhỏ 40S và 60S. Đơn vị nhỏ 40S được tạo thành do sự tập hợp các protein với rARN 18S. Còn đơn vị nhỏ 60S được tạo thành do sự tập hợp các protein với rARN 28S; 5,8S và 5S. Các đơn vị nhỏ sẽ qua lỗ màng nhân ra tế bào chất để tạo thành riboxom khi tế bào cần đến. Như vậy hạch nhân có vai trò tổng hợp rARN, đóng gói và tích lũy riboxom. Ngoài ra hạch nhân còn có vai trò điều chỉnh sự vận chuyển các mARN từ nhân ra tế bào chất và có vai trò điều chỉnh quá trình phân bào.

4.5. Nguồn gốc của hạch nhân

Hạch nhân biến mất ở cuối tiền kỳ và lại được xuất hiện vào cuối mạt kỳ. Khi hạch nhân biến mất thì các cấu thành của chúng không bị phân huỷ mất đi, đặc biệt là ADN hạch nhân đã "trở về" vùng NOR nhập vào nhiễm sắc thể, và khi tạo thành hạch nhân mới, ADN vùng NOR (có mã hóa cho rARN) được tách ra hoạt động phiên mã cho ra các rARN, từ đó phối hợp với protein tạo thành hạch nhân. Vì vậy ta có thể nói hạch nhân có nguồn gốc từ vùng NOR của các nhiễm sắc thể có thể kèm (ví dụ nhiễm sắc thể số 6 ở lúa mì; nhiễm sắc thể số 13, 14, 15, 21, 22 ở người).

V- DỊCH NHÂN (KARYOLIMPH)

Trong nhân, ngoài chất nhiễm sắc và hạch nhân còn có chứa pha lỏng được gọi là dịch nhân. Trong thành phần của dịch nhân có các loại protein khác nhau trong đó có nucleoprotein, các glicoprotein và phần lớn các enzim của nhân. Nghiên cứu hiển vi điện tử cho thấy trong dịch nhân có các hạt có kích thước và tỷ trọng khác nhau. Có loại hạt có kích thước 15nm tương ứng với hạt của hạch nhân và cũng giống các riboxom của tế bào chất. Bản chất của các hạt là ribonucleoprotein trong đó rARN chiếm 40-50%. Các riboxom trong dịch nhân chính là giai đoạn chuyển tiếp của các riboxom đi từ hạch nhân ra tế bào chất qua dịch nhân. Đa số các enzim của nhân nằm trong dịch nhân, đặc biệt là các enzim tham gia vào sự tổng hợp các axit nucleic (ADN và các loại ARN). Trong dịch nhân thiếu hẳn các enzim hô hấp, đặc biệt là cytochromooxydaza và sucxinatdehydrogenaza. Trong dịch nhân chỉ có các enzim đường phân như: aldolaza, enolaza và dehydrogenaza, gliceraldehít - 3 -

photphataza. Như vậy trong nhân chủ yếu là có sự trao đổi chất yếm khí và nguồn năng lượng chủ yếu là do đường phân (glicolyse).

Các enzim quan trọng hơn của nhân là các enzim tham gia vào sự trao đổi axit nucleic: ADN polimeraza tham gia tổng hợp nên ADN và ARN polimeraza tham gia tổng hợp nên mARN (ARN thông tin). Một số enzim tham gia trong sự trao đổi nucleozit (ví dụ adenozin dezaminaza, nucleozidphotphorilaza và guanaza) có trong nhân với hàm lượng đặc biệt cao. Một số enzim (ví dụ catalaza hoặc arginaza) chỉ có trong nhân một số tế bào.

VI- GIÁ TRỊ CHỨC NĂNG CỦA NHÂN

Như trên đã xét, nhân có vai trò vô cùng quan trọng đối với tế bào. Vai trò của nhân đối với tế bào thể hiện chủ yếu ở hai phương diện:

– Phương diện tích và chuyền thông tin di truyền từ thế hệ tế bào này sang thế hệ tế bào khác (bảo đảm tính liên tục di truyền).

– Phương diện điều hòa và điều khiển các hoạt động sống của tế bào (bảo đảm tính tồn tại của hệ thống trong điều kiện sống nhất định, hay nói một cách khác là bảo đảm sự thực hiện thông tin di truyền trong đời sống tế bào).

Vì ở đây đang xét nhân ở trạng thái yên nghỉ (nhân gian kỳ) cho nên vai trò của nhân trong việc chuyền thông tin từ thế hệ này sang thế hệ khác, tức là vai trò của sự nhân đôi ADN, nhân đôi nhiễm sắc thể, của sự phân phối bộ nhiễm sắc thể về hai tế bào con (phân bào nguyên nhiễm, sự phân bào giảm nhiễm cùng sự tái tổ hợp gen v.v... ta sẽ xét ở các chương sau).

Về vai trò của nhân trong hoạt động sống của tế bào đã được chứng minh từ lâu (những năm 70-80 của thế kỷ XX) bằng những thí nghiệm tiến hành trên động vật đơn bào. Nếu như đem cắt con thảo trùng *Oxitricha* hoặc *Stentor* thành hai nửa nhưng một nửa có nhân, còn một nửa không nhân, thì nửa có nhân sẽ nhanh chóng tái sinh phần tế bào chất và sẽ khôi phục lại hình dạng thảo trùng như cũ, còn nửa không nhân sẽ chết. Người ta đã chứng minh rằng, nửa tế bào thảo trùng dù chỉ mang có 1/64 nhân vẫn có khả năng tái sinh lại. Đối với bọn *Foraminifera* thì nửa có nhân có khả năng khôi phục phần vỏ cứng bị mất, còn nửa không nhân không có khả năng đó. Đối với một số đơn bào (ví dụ *Lachrymaix, Polystomella*) thì nửa không nhân có thể còn sống được trong một thời gian, có thể bắt thức ăn,

chuyển động và phản ứng với kích thích. Tuy nhiên, thức ăn sẽ không được tiêu hoá, và chúng không có khả năng tiết ra chất để tạo thành vỏ cứng, cũng như chất nhày để bám.

Các thí nghiệm về sự chiếu xạ tế bào cũng chứng minh vai trò của nhân trong hoạt động sống của tế bào. Đem chiếu xạ (dùng tia tử ngoại) con amip làm phá huỷ hoạt động sống của chúng, xong tách bỏ nhân, đem cấy một nhân mới (nhân của con amip khoẻ) vào đó thì hoạt động sống khôi phục. Nhưng nếu đem cấy nhân chiếu xạ vào con amip khác (đã bị lấy nhân) thì trong tế bào chất xuất hiện nhiều biến đổi.

Qua các thí nghiệm trên ta thấy các nửa tế bào không nhân (hoặc hỏng nhân) sẽ bị chết nhưng có thể tồn tại trong một thời gian và có thể thực hiện một số chức năng. Chúng chết vì mất nhân sẽ mất các quá trình tổng hợp chất cần thiết, nhưng chưa chết ngay vì các chất từ nhân ra tế bào chất cần cho hoạt động sống vẫn có tác dụng trong thời gian nào đó, khi hết các chất đó tế bào sẽ chết.

Những thí nghiệm gần đây, ví dụ, cắt mảnh con amip hoặc tách bỏ nhân ở amip cho thấy có ảnh hưởng lớn đến hàm lượng các enzim trong tế bào chất. Hàm lượng các enzim photphataza axit, dipeptidaza và esteraza bị giảm rất nhanh ở phần không nhân so với phần có nhân. Hàm lượng các enzim khác như proteaza, enolaza, ATPaza, các men hô hấp thì thay đổi ít hơn. Ở nửa không nhân, quá trình đường phân nhanh chóng bị phá huỷ. Tuyệt đại đa số các enzim trong tế bào chất được tổng hợp dưới sự kiểm tra của nhân.

Nhiều thí nghiệm khác được tiến hành trên tảo đơn bào *Acetabularia*. Phần bị tách bỏ nhân vẫn duy trì quang hợp trong suốt hai tuần lễ và sự thu thập các đồng vị đánh dấu C^{14}, O_2, hoặc glycin đánh dấu vào thành phần protein vẫn tiếp tục. Nhưng chỉ sau 12-15 ngày, ở phần mất nhân cường độ tổng hợp protein giảm dần và tiến tới ngưng hẳn. Tuy chúng còn có thể sống tới 2 tháng.

Trong phần cơ thể *Acetabularia* thiếu nhân, thời gian đầu ARN vẫn được tổng hợp, nhưng nếu ta xử lý enzim ARNaza với cả phần không nhân và phần có nhân thì sự tổng hợp protein đều bị ngưng lại, nhưng sau đó đem trồng chúng mà không cho tác dụng của ARNaza nữa thì chỉ có phần có nhân là khôi phục được quá trình tổng hợp protein.

Nhiều thí nghiệm khác trên nhiều đối tượng cho thấy rằng, nếu mất nhân thì tế bào cuối cùng sẽ mất khả năng phân chia và sẽ chết,

tuy nhiên chúng vẫn giữ được một số quá trình tổng hợp các enzim cần thiết và do đó còn có thể tồn tại trong một thời gian. Ngay trong cơ thể động vật có vú, các tế bào hồng cầu tuy không có nhân vẫn tồn tại và hoạt động trong thời gian 120 ngày, tuy nhiên sau đó chúng sẽ chết vì mất khả năng phân chia. Tế bào hồng cầu lưới vừa mới mất nhân vẫn giữ được khả năng tổng hợp hemoglobin tuy chúng không còn khả năng tổng hợp ARN.

Điều trên có thể giải thích được bằng hai cách: Các quá trình tổng hợp protein vẫn duy trì được trong các phần mất nhân, hoặc là do trong tế bào chất còn có dự trữ mARN là loại ARN mang thông tin cần thiết để tổng hợp nên protein, hoặc là do trong tế bào chất có các đơn vị di truyền độc lập như ty thể, lục lạp có khả năng chứa thông tin đủ để tổng hợp một số enzim nào đó. Nhưng muốn cho quá trình tổng hợp protein trong tế bào xảy ra đầy đủ, lâu dài thì rõ ràng phải có mặt của nhân.

Theo quan điểm sinh học hiện đại thì vai trò của nhân đối với tế bào thể hiện ở chỗ: Là trung tâm điều hòa và điều khiển các quá trình sinh tổng hợp protein xảy ra trong tế bào chất. Nhân có vai trò đó là vì nhân chứa ADN, và như ta đã biết phân tử ADN chứa tất cả mật mã thông tin để tổng hợp protein cho tế bào. Các loại ARN cần thiết để tổng hợp protein như mARN, rARN và tARN đều được tổng hợp trong nhân trên khuôn của ADN và đi ra tế bào chất.

Đối với nhiều loại tế bào, các mARN có thể tồn tại và hoạt động trong tế bào chất với thời gian khá lâu, điều đó giải thích tại sao phần tế bào chất mất nhân vẫn duy trì được sự tổng hợp protein trong một thời gian, tuy sự tổng hợp ARN không xảy ra.

Như vậy nhân gian kỳ đóng vai trò quan trọng trong hoạt động sống của tế bào chính là ở chỗ chúng sản sinh ra các ARN và ARN đến lượt nó tham gia tổng hợp nên các protein. Các protein xây dựng nên các cấu trúc của tế bào cũng như điều hòa các phản ứng sinh hóa, qua đó thể hiện các hoạt động sinh sống của tế bào cũng như tính đặc trưng của cơ thể.

Tuy nhiên khi ta nhấn mạnh vai trò của nhân trong hoạt động sống của tế bào như là trung tâm điều hòa và điều khiển, thì ta cần nhớ rằng phải xem tế bào là một hệ thống toàn vẹn, một hệ thống tự điều hòa điều khiển theo nguyên tắc mối liên hệ ngược lại, nghĩa là nhân chỉ hoạt động được khi có tế bào chất dù là một phần nhỏ, và phải quan tâm đúng mức đến ảnh hưởng qua lại của tế bào chất đối với nhân.

Nhân là nơi chứa nhiễm sắc thể, là tổ chức chứa ADN, vật chất mang thông tin di truyền của toàn bộ cơ thể, do đó nó điều khiển hoạt động sống của tế bào.

Trong nhân diễn ra quá trình tái bản mã: ADN mẹ được sao chép thành các ADN con và thông qua sự phân đôi tế bào, ADN sẽ được di truyền qua thế hệ tế bào.

Trong nhân còn diễn ra quá trình phiên mã để tổng hợp các dạng ARN cần thiết cho sự dịch mã để tổng hợp protein, thể hiện thông tin di truyền từ kiểu gen đến kiểu hình.

Cần chú ý là, nhân thực hiện vai trò di truyền cũng như điều khiển hoạt động sống của tế bào trong mối tương quan mật thiết với tế bào chất và với môi trường nội bào cũng như môi trường ngoại bào.

Hồng cầu gà có nhân nhưng nhân bất hoạt, nghĩa là các gen đều bị đóng nên không tổng hợp protein. Năm 1952, chị Henrietta Lack (người Mỹ) bị chết vì bệnh ung thư cổ dạ con, các nhà khoa học đã chích lấy tế bào ung thư đặt tên là tế bào HeLa và nuôi cấy chúng *invitro* để nghiên cứu. Hiện nay hầu hết các phòng thí nghiệm về công nghệ tế bào đều nuôi cấy tế bào HeLa (các nhà khoa học nói đùa là chị Henrietta bất tử). Tế bào HeLa đúng là bất tử vì người ta có thể lưu giữ và cấy chuyền mãi mãi. Chúng có đặc điểm là tích cực tổng hợp protein và phân chia sinh sản không ngừng. Khi đem lai tế bào HeLa với hồng cầu gà sẽ cho ra tế bào lai giữa người và gà được gọi là tế bào lai soma. Tế bào lai này vừa có các đặc tính di truyền của người và cả của gà. Chúng không những tổng hợp nên protein của người mà còn sản sinh ra protein của gà. Các bạn thử suy nghĩ xem tại sao. Điều đó nói lên có sự liên quan mật thiết giữa nhân và tế bào chất. Các nhân tố hoạt hoá gen trong tế bào chất của tế bào HeLa đã mở các gen của gà có trong tế bào lai và đã tổng hợp nên các protein đặc trưng cho gà. Cũng dựa trên nguyên tắc này mà các nhà công nghệ nhân bản vô tính thường sử dụng phương pháp cấy nhân của các tế bào sinh dưỡng vào tế bào trứng (đã bị lấy mất nhân). Con cừu Dolly đã được ra đời năm 1997 bằng phương pháp cấy nhân của tế bào tuyến vú của giống cừu Finn Dorset (lông trắng) vào trứng (đã bị mất nhân) của giống cừu Blackface (đầu đen). Các bạn hãy suy nghĩ xem cừu Dolly thuộc giống Finn Dorset hay Blackface.

CÂU HỎI KIỂM TRA KIẾN THỨC (ĐÚNG, SAI)

(Chương V. Nhân tế bào)

1. Procaryota có vùng tế bào chất chứa phân tử ADN được gọi là nucleoid.
2. Eucaryota trong tế bào chất có nhiều nucleoid.

3. Paramecium có 2 nhân: 1 nhân lớn là nhân dinh dưỡng và nhân bé là nhân sinh sản.
4. Tế bào gan có thể có 2 hoặc 3, 4 nhân.
5. Hồng cầu người có 2 nhân.
6. Tế bào cơ trơn là hợp bào chứa nhiều nhân.
7. Con amip bị lấy bỏ nhân vẫn sinh sản bình thường.
8. Tế bào trứng cừu A bị bỏ nhân và được cấy nhân của tế bào tuyến vú cừu B sẽ phát triển thành cừu A.
9. Màng nhân giống màng sinh chất và không có lỗ.
10. Lỗ màng nhân để vận chuyển chất từ tế bào chất vào nhân và ngược lại.
11. Lót màng trong của nhân có tấm lamina.
12. Tiền kỳ màng nhân được tái sinh và sẽ mất đi ở mạt kỳ.
13. Hạch nhân là cấu trúc màng lipoprotein.
14. Hạch nhân được cấu tạo từ các sợi và hạt có bản chất là deoxiribonucleprotein và ribonucleoprotein.
15. Hạch nhân là nơi tổng hợp protein.
16. Hạch nhân có nguồn gốc từ vùng NOR của nhiễm sắc thể có thể kèm.
17. Hạch nhân mất đi ở mạt kỳ và được tạo thành ở tiền kỳ.
18. Chất nhiễm sắc tồn tại ở kỳ phân bào.
19. Nhiễm sắc thể là dạng xoắn, cô đặc của chất nhiễm sắc.
20. Thể Barr là chất nhiễm sắc ở dạng nhiễm sắc thực.
21. Tế bào soma ở người có số lượng nhiễm sắc thể là n = 23.
22. Tất cả tinh trùng người đều chứa nhiễm sắc thể Y.
23. Tế bào trứng người không chứa nhiễm sắc thể Y.
24. Trong tế bào 2n, gen sẽ không có alen tương ứng.
25. Nhiễm sắc thể được cấu tạo gồm ADN liên kết với protein histon tạo nên các sợi nucleoxom.
26. Nucleoxom gồm lõi ADN và được bao bởi 8 phân tử histon.
27. Histon H_1 có vai trò liên kết các sợi nucleoxom tạo thành sợi solenoid có kích thước lớn hơn.
28. Một nhiễm sắc thể chứa nhiều phân tử ADN mỗi phân tử chứa một gen.
29. Nhiễm sắc thể cân tâm là khi trung tiết nằm ở đầu cuối.
30. Tiết mút (telomere) được định khu ở phần giữa nhiễm sắc thể.
31. Đột biến nhiễm sắc thể bao gồm biến đổi về số lượng và cấu trúc nhiễm sắc thể.

PHẦN III

CHUYỂN HOÁ VẬT CHẤT VÀ NĂNG LƯỢNG Ở TẾ BÀO

Chương VI

NĂNG LƯỢNG VÀ CHUYỂN HOÁ NĂNG LƯỢNG Ở TẾ BÀO

Tế bào sống cũng như cơ thể sống muốn tồn tại và phát triển cần tiêu thụ năng lượng. Tế bào tuân theo quy luật bảo tồn năng lượng, nghĩa là tế bào không tự tạo ra năng lượng cũng không làm mất năng lượng mà tế bào chỉ chuyển hoá năng lượng từ dạng này sang dạng khác mà thôi. Tế bào được xem như cỗ máy chuyển hóa năng lượng vạn năng. Ví dụ, tế bào cây xanh có thể chuyển hóa quang năng thành năng lượng hóa học tích trong các phân tử hữu cơ. Tế bào động vật có thể chuyển hóa hóa năng thành công năng (vận động cơ), thành điện năng (dẫn chuyền thần kinh). Tế bào vi khuẩn có thể chuyển hóa hóa năng thành quang năng (phát huỳnh quang).

I- KHÁI NIỆM NĂNG LƯỢNG

1.1. Năng lượng là gì?

Khi chúng ta nâng một hòn đá lên cao là chúng ta đã thực hiện một công, và chúng ta phải tiêu thụ năng lượng. Như vậy năng lượng được định nghĩa như là khả năng hoàn thành một công. Công là lực tạo nên chuyển động một đối tượng chống lại lực đối lập. Chúng ta nâng được hòn đá là nhờ lực cơ chống lại lực trọng trường.

1.2. Các dạng năng lượng

Người ta phân biệt hai dạng năng lượng: thế năng và động năng. Thế năng là năng lượng ở dạng định vị và trật tự, còn động năng là dạng năng lượng vận động. Khi vận động viên trượt tuyết leo bộ lên đỉnh núi, anh ta đã biến năng lượng tích trong chất dinh dưỡng (thế

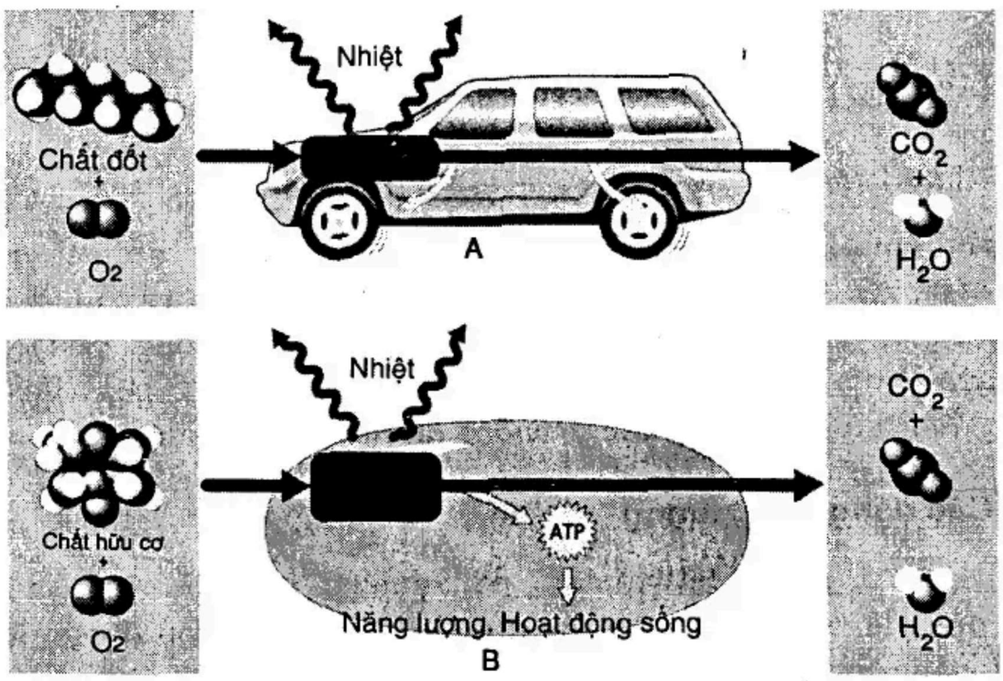
năng) thành năng lượng vận động cơ bắp (động năng), năng lượng này không mất đi khi anh ta lên đến đỉnh núi mà lại chuyển thành thế năng và khi anh ta buông mình trượt xuống núi, thế năng lại biến thành năng lượng vận động tức là động năng.

II- SỰ SỬ DỤNG NĂNG LƯỢNG CỦA TẾ BÀO

Chúng ta so sánh hoạt động của chiếc ô tô với hoạt động của tế bào theo sơ đồ ở hình 6.1 sẽ thấy điểm giống nhau và khác nhau trong việc chuyển hoá năng lượng và sử dụng năng lượng trong chiếc ô tô và trong tế bào.

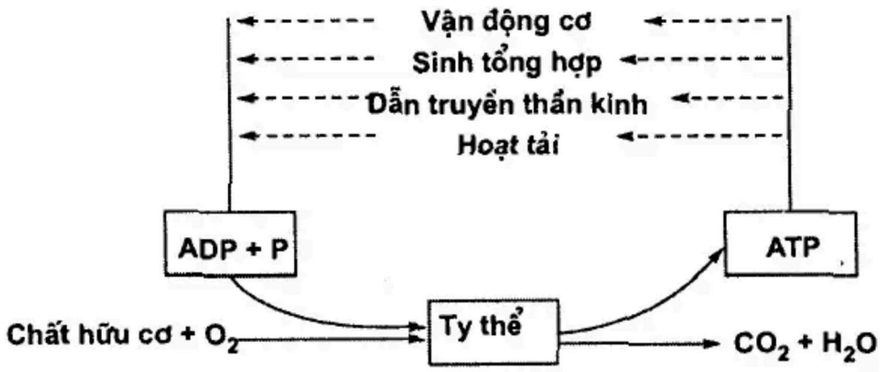
– Điểm giống nhau: Đối với ô tô cũng như đối với tế bào, nhiên liệu đều được oxy hoá để cung cấp năng lượng cho hoạt động của ô tô (nổ máy chạy ô tô), của tế bào (ví dụ co cơ) đồng thời sinh nhiệt và sản phẩm cuối cùng đều là H_2O và CO_2.

– Điểm khác nhau: Quá trình đốt cháy trong ô tô chỉ xảy ra một phản ứng, số nhiệt sản ra rất lớn (>100°C, sờ vào máy sẽ bị bỏng) và hiệu suất sinh công chỉ đạt tối đa 25%; trong lúc đó đối với tế bào, sự hô hấp bao gồm nhiều phản ứng kế tiếp, năng lượng được trích ra từ từ từng phần và được tích vào ATP để sử dụng. Chính vì vậy mà tế bào không bị đốt cháy (chỉ giữ ở nhiệt độ 37°C) và đạt hiệu suất chuyển hoá năng lượng rất cao, 40%.



Hình 6.1. *Sơ đồ chuyển hoá năng lượng trong xe ô tô (A) và trong tế bào (B)*

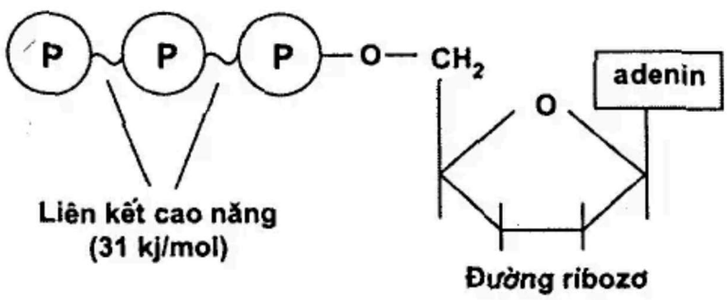
Các chất hữu cơ tích thế năng (dạng hoá năng) và khi chúng bị phân giải qua quá trình hô hấp tế bào, năng lượng được giải phóng và được sử dụng để thực hiện các chức năng sống như co cơ, dẫn chuyền thần kinh, hoạt tải, tổng hợp chất. Như trên sơ đồ hình 6.1B và hình 6.2 ta thấy năng lượng được giải phóng không được dùng ngay mà phải tích vào trong phân tử ATP rồi mới được dùng. ATP là chất tích luỹ năng lượng phổ biến nhất để tế bào có thể sử dụng ngay. Người ta nói ATP là đồng tiền năng lượng của tế bào với ý nghĩa ATP là dạng năng lượng được tiêu dùng ngay hằng ngày như tiền tệ vậy.



Hình 6.2. Sơ đồ chuyển hoá năng lượng và sử dụng năng lượng của tế bào

2.1. Cấu trúc của ATP

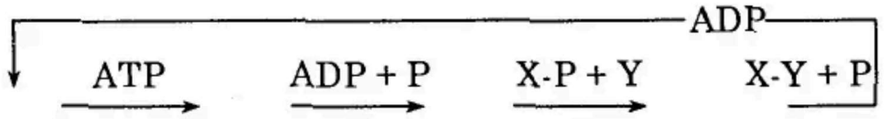
ATP là tên viết tắt của hợp chất hữu cơ adenozintriphotphat, là chất được cấu tạo gồm bazơ adenin, đường ribozơ và ba nhóm photphat (hình 6.3) Liên kết photphat thứ hai và thứ ba là phần tích luỹ năng lượng và khi các nhóm photphat này bị tách ra, năng lượng sẽ được giải phóng.



Hình 6.3. Cấu trúc hoá học của ATP

2.2. Chu kỳ chuyển hoá ATP- ADP- ATP

Khi tế bào sử dụng ATP như là chất cung cấp năng lượng thì ATP bị phân giải nhờ enzim thành ADP và P, nhóm photphat không mất đi mà sẽ liên kết với chất thực hiện chức năng (ví dụ protein hoạt tải, protein co cơ, hoặc chất tham gia phản ứng là chất X ở sơ đồ hình 6.4), và khi hoạt động chức năng đã được hoàn thành thì nhóm photphat lại liên kết với ADP để tạo thành ATP nhờ nguồn năng lượng tạo ra từ các phản ứng giải phóng năng lượng.



Hình 6.4. Sơ đồ chu kỳ chuyển hoá ATP ↔ ADP

III- CHUYỂN HÓA VẬT CHẤT TRONG TẾ BÀO

Sự chuyển hoá vật chất trong tế bào bao gồm tất cả các phản ứng diễn ra trong tế bào và cơ thể sống. Các phản ứng này bao gồm hai quá trình: đồng hoá và dị hoá.

3.1. Đồng hoá và dị hoá

a) Quá trình đồng hoá: Quá trình đồng hoá là quá trình tổng hợp các chất phức tạp từ những chất đơn giản để tạo thành những chất hữu cơ đặc trưng, ví dụ, tổng hợp tinh bột từ glucozơ, tổng hợp protein từ các axit amin, tổng hợp axit nucleic từ các nucleotit... Các chất hữu cơ được tổng hợp đều tích luỹ thế năng cần cho các quá trình sống.

b) Quá trình dị hoá: Quá trình dị hoá là quá trình phân giải các chất phức tạp thành các chất đơn giản hơn và khi đó các liên kết hoá học bị phá vỡ, thế năng chuyển thành động năng, ví dụ, tinh bột phân giải thành glucozơ, protein phân giải thành axit amin, axit nucleic phân giải thành nucleotit.

c) Mối tương quan giữa đồng hoá và dị hoá: Hai quá trình đồng hoá và dị hoá là ngược nhau và mâu thuẫn nhưng thống nhất.

Sơ đồ sau và chỉ ra điểm mâu thuẫn nhưng thống nhất giữa đồng hoá và dị hoá.

$$6CO_2 + 6H_2O \underset{\text{Dị hoá}}{\overset{\text{Đồng hoá}}{\rightleftharpoons}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$
$$(+ Q) \qquad\qquad (-Q)$$

Để các quá trình đồng hoá và dị hoá có thể xảy ra trong tế bào sống thì cần thiết phải có sự tham gia của các chất xúc tác sinh học là các enzim.

IV- ENZIM - CHẤT XÚC TÁC SINH HỌC

4.1. Khái niệm về chất xúc tác sinh học

Để hiểu được chất xúc tác sinh học là gì, hãy xem xét và so sánh 2 hiện tượng sau đây.

– Trong bình cầu đựng 200ml hồ tinh bột ta cho thêm 5ml HCl và đun sôi trong 1 giờ. Tinh bột đã bị phân giải thành glucozơ (A):

$$\text{(A)} \qquad \text{Tinh bột} \xrightarrow[\text{HCl}]{} \text{Glucozơ } (t^0 = 100^0C, 1 \text{ giờ})$$

– Khi ta nhai cơm (tinh bột), dưới tác động của enzim *amilaza,* tinh bột cũng biến đổi thành glucozơ nhưng chỉ trong vài phút (B):

$$\text{(B)} \qquad \text{Tinh bột} \xrightarrow[\text{Amilaza}]{} \text{Glucozơ } (t^0 = 37^0C, \text{ phút})$$

HCl và amilaza đều là chất xúc tác. Chúng đều có tác dụng xúc tác cho phản ứng phân giải tinh bột thành các phân tử glucozơ. HCl là chất axit vô cơ đóng vai trò là chất xúc tác cho phản ứng phân giải tinh bột trong điều kiện nhiệt độ 100^0C với thời gian 1 giờ.

Amilaza là chất hữu cơ có bản chất là protein do cơ thể sống tiết ra có tác dụng xúc tác cho phản ứng phân giải tinh bột ở nhiệt độ 37^0C chỉ trong thời gian 1 phút. Amilaza được gọi là chất xúc tác sinh học hay là *enzim.*

Như vậy enzim là chất xúc tác sinh học có bản chất là protein do tế bào sinh ra có tác động xúc tác các phản ứng xảy ra nhanh trong

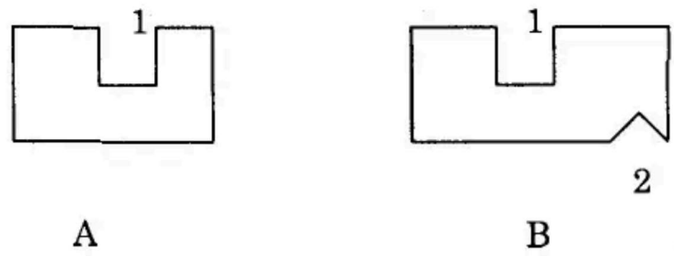
các điều kiện sinh lý bình thường của cơ thể sống và bản thân enzim không thay đổi khi phản ứng hoàn thành.

Thuật ngữ enzim được nhà Sinh lý học người Đức Vilgelm Kuner đặt tên vào năm 1878 là xuất xứ từ tiếng Hy Lạp - *enzime* (*en* - là ở trong, *zime* - là nấm men) bởi vì enzim là chất xúc tác sinh học đầu tiên được nghiên cứu ở Nấm men, do tế bào Nấm men tiết ra có tác dụng tạo nên sự lên men (lên men rượu), và lúc đầu được gọi là *chất men* (*fermen* - từ thuật ngữ fermentation - là sự lên men). Ngày nay trong nhiều tài liệu vẫn gọi enzim là fermen.

4.2. Bản chất và cấu trúc của enzim

a) Bản chất hóa học của enzim: Enzim là hợp chất hữu cơ phức tạp, có bản chất hóa học thuộc protein, được tổng hợp trong tế bào và có vai trò xúc tác các phản ứng hóa học xảy ra nhanh trong điều kiện sinh lý bình thường của cơ thể mà bản thân enzim không thay đổi thành phần khi tham gia phản ứng. Do đó enzim có thể được quay vòng sử dụng nhiều lần.

b) Cấu trúc của enzim: Enzim là protein nên có cấu trúc phức tạp, đặc biệt là cấu trúc hình thù không gian. Mỗi loại enzim có cấu trúc không gian đặc thù, đặc biệt là vùng được gọi là *trung tâm hoạt tính*. Trung tâm hoạt tính của enzim được cấu tạo bởi một số các axit amin đặc thù và có thù hình không gian đặc thù, phù hợp với cấu trúc của cơ chất mà enzim xúc tác (hình 6.5A).



Hình 6.5. *Sơ đồ cấu trúc không gian của enzim*
A. Enzim với trung tâm hoạt tính (1)
B. Enzim với trung tâm hoạt tính (1) và trung tâm điều chỉnh (2)

Hình thù không gian của trung tâm hoạt tính có thể bị thay đổi, ví dụ, bị đột biến và sẽ dẫn đến làm thay đổi chức năng của enzim.

Nhiều enzim, ngoài trung tâm hoạt tính còn có thêm trung tâm

phụ được gọi là *trung tâm điều chỉnh* có tác dụng điều chỉnh hình thù của trung tâm hoạt tính (hình 6.5B).

Đối với một số enzim, ngoài thành phần protein còn có một số chất khác tham gia. Các chất đó được gọi là coenzim, ví dụ, một số ion, một số vitamin.

4.3. Apoenzim và coenzim

Nhiều enzim, ngoài thành phần protein còn có thêm thành phần khác không phải là protein. Thành phần protein của enzim được gọi là *apoenzim*, còn thành phần không phải protein được gọi là *cofactor*. Cofactor thường liên kết cố định hoặc tạm thời với trung tâm hoạt tính của enzim và cần thiết cho hoạt động xúc tác của enzim. Chất cofactor có thể là chất vô cơ và thường là các ion kim loại như sắt, đồng, kẽm, niken, magie, mangan... Chất cofactor có thể là chất hữu cơ, thường là các vitamin. Trường hợp này chất cofactor được gọi là *coenzim*. Các cofacror rất cần thiết cho hoạt động của enzim, vì vậy trong thành phần dinh dưỡng của cây trồng, vật nuôi và con người, cần phải có đủ các nguyên tố vi lượng và vitamin.

4.4. Phân loại enzim

a) Tên gọi enzim

Người ta thường gọi enzim theo phản ứng mà chúng xúc tác hoặc theo cơ chất mà chúng tác động và thêm vào đuội *aza*, ví dụ, các enzim xúc tác phản ứng thủy phân (có sự tham gia của nước) là *enzim thủy phân* (*hydrolaza*), hoặc theo cơ chất mà chúng tác động, ví dụ, *xenlulaza* phân giải xenlulozơ, *lipaza* phân giải lipit, *proteaza* phân giải protein.

Ngoại lệ, nhiều enzim vẫn được gọi theo tên người ta đã đặt cho chúng khi mới phát hiện, ví dụ, pepsin (enzim phân giải protein trong dạ dày).

b) Phân loại enzim

Người ta cũng căn cứ vào phản ứng hóa học và cơ chất mà enzim xúc tác để phân loại enzim. Tuy vậy càng ngày càng có nhiều loại enzim được phát hiện cho nên sự đặt tên và phân loại enzim khá tùy tiện. Bảng sau đây chỉ ra cách phân loại enzim đã được công ước quốc tế công nhận:

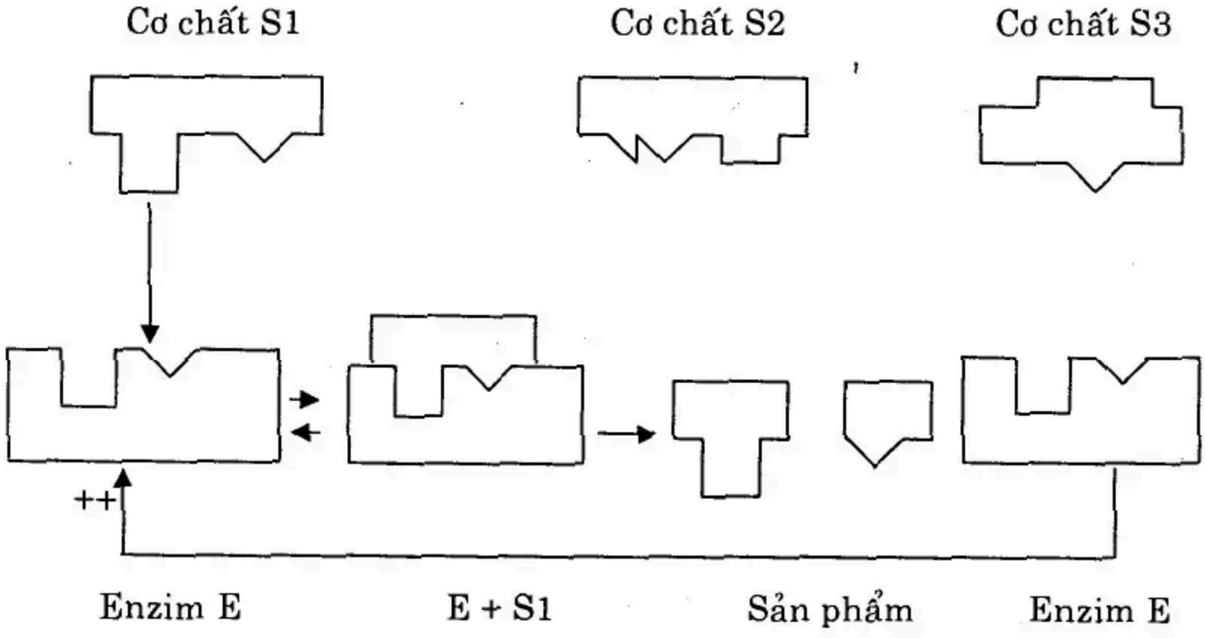
Bảng 6.1. Phân loại enzim và các phản ứng xúc tác

Loại enzim	Loại phản ứng được xúc tác
Oxyreductaza	Xúc tác các phản ứng oxy hóa - khử, nghĩa là chúng vận chuyển các nguyên tử hydro hoặc điện tử từ cơ chất của chúng sang các phân tử nhận.
Tranferaza	Xúc tác sự vận chuyển nhóm nhỏ các nguyên tử từ cơ chất này sang cơ chất khác.
Hydrolaza	Tác động làm đứt gãy các liên kết hóa học bằng thủy phân.
Liaza	Xúc tác sự nối thêm một nhóm mới vào cơ chất bằng cách làm gãy nối đôi. Ngược lại chúng cũng có thể xúc tác tạo nối đôi.
Isomeraza	Xúc tác sự tái phân bố các nguyên tử trong cơ chất, nghĩa là làm biến đổi đồng phân này thành đồng phân khác (cần có nước).
Ligaza	Xúc tác tạo liên kết hóa học mới có sử dụng năng lượng từ ATP. Ligaza xúc tác sự tổng hợp nên các cacbohydrat, protein và các đại phân tử khác.

4.5. Hoạt động của enzim

a) Cơ chế tác động của enzim

Sơ đồ ở hình 6.6 thể hiện cơ chế tác động của enzim (E) đối với cơ chất (S1) Tại sao enzim E không có tác động đối với các cơ chất S2 và S3 mà chỉ có tác động đối với cơ chất S1?



Hình 6.6. *Sơ đồ về cơ chế tác động của enzim*

Enzim có vai trò giảm năng lượng hoạt hóa của phản ứng hóa học bằng cách tạo ra các phản ứng trung gian. Như ở sơ đồ hình 6.6 ta thấy enzim E liên kết với cơ chất S1 tạo thành phức hệ E+S1 theo kiểu phù hợp thù hình như chìa khóa và ổ khóa và sau khi phản ứng được hoàn thành, enzim được giải phóng không thay đổi và có thể tiếp tục tham gia phản ứng.

– Sự phù hợp thù hình:

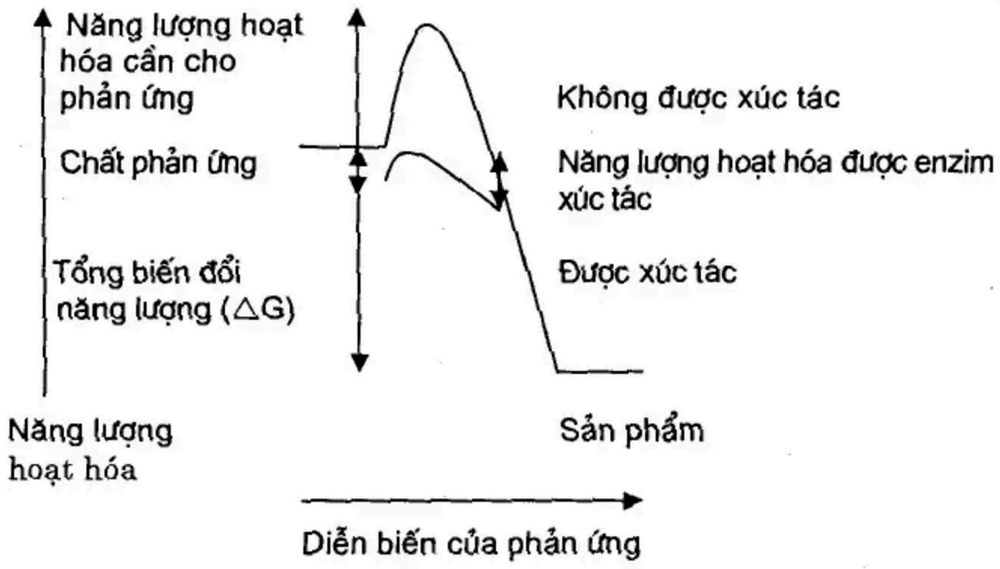
Mỗi enzim có thù hình không gian đặc thù (vùng *trung tâm hoạt tính*) phù hợp với cấu trúc cơ chất mà nó xúc tác. Hiện tượng xảy ra theo 3 bước: 1) Cơ chất được liên kết với trung tâm hoạt tính của enzim bằng liên kết ion yếu tạo nên phức hệ *enzim-cơ chất* (E+S), 2) Sản phẩm của phản ứng được hình thành, 3) Enzim được giải phóng và có thể được sử dụng lại.

Đối với một số enzim, ngoài trung tâm hoạt tính còn có vùng đặc trưng khác được gọi là *trung tâm điều chỉnh,* thì đòi hỏi phải có nhân tố điều chỉnh, chúng liên kết với trung tâm điều chỉnh và làm cho trung tâm hoạt tính biến đổi thù hình phù hợp với cơ chất.

Đối với các enzim có cofactor thì chỉ khi cofactor liên kết với enzim thì thù hình của enzim mới phù hợp với cơ chất. Bằng cách sử dụng cofactor và trung tâm điều chỉnh khiến cho hoạt động của enzim được điều hòa linh hoạt đáp ứng mọi tình huống của tế bào.

– Giảm năng lượng hoạt hóa:

Enzim có thể hoạt động được trong điều kiện nhiệt độ thấp của tế bào là vì enzim đã tác động làm giảm năng lượng hoạt hóa của phản ứng. Trong bất kỳ phản ứng hóa học nào, các phân tử tham gia phản ứng phải nhận được một số năng lượng từ xung quanh trước khi phản ứng có thể xảy ra. Năng lượng này được gọi là *năng lượng hoạt hóa.* Nhiều phản ứng có thể xảy ra trong điều kiện nhiệt độ bình thường vì năng lượng cần thiết luôn có đủ. Tuy nhiên trong nhiều trường hợp khác, năng lượng hoạt hóa là "lực cản" làm phản ứng chậm lại, hoặc bị ngừng. Có thể vượt qua lực cản này bằng cách tăng nhiệt độ và áp suất để tăng tốc sự vận động của các phân tử tham gia phản ứng, làm tăng năng lượng động học của chúng và làm chúng dễ va chạm vào nhau. Phản ứng cũng được tăng tốc nếu có enzim. Bằng cách liên kết với cơ chất và làm thay đổi hình dạng của chúng, enzim làm giảm năng lượng cần thiết cho phản ứng, tức là làm giảm năng lượng hoạt hóa của phản ứng, tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra trong điều kiện nhiệt độ và áp suất bình thường của cơ thể sống (hình 6.7).



Hình 6.7. *Năng lượng hoạt hóa và hoạt động xúc tác của enzim*

b) Sự điều hòa hoạt động của enzim

Hoạt động của enzim được điều hòa bằng nhiều cơ chế:

– Sự định khu và phân bố hoạt động của enzim:

Mỗi loại enzim có tác động đặc thù cho mỗi loại cơ chất và mỗi loại phản ứng, vì vậy, chúng cần được định khu và phân bố hoạt động đúng chỗ. Các enzim hoạt động ngoại bào, ví dụ *pepsin* (phân giải protein) hoạt động trong dạ dày, nhưng chúng lại được sản sinh ra trong tế bào; do đó chúng có thể phá hủy tế bào. May mắn là tế bào sản sinh ra chúng ở dạng tiền enzim là *pepsinogen* không có hoạt tính và chỉ khi được tiết vào dạ dày, nơi có độ pH axit thì chúng mới biến thành pepsin ở dạng hoạt tính.

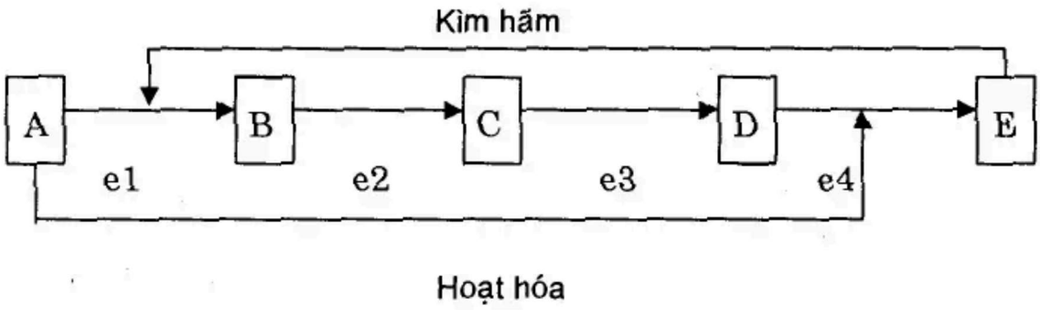
Trong tế bào, nhiều enzim được phân vùng hoạt động bằng cách định khu bao gói lại. Ví dụ, rõ nhất là các enzim thủy phân được bao gói trong lizoxom. Nếu màng lizoxom bị hỏng, các enzim được giải phóng ra tế bào chất, chúng sẽ phân hủy toàn bộ tế bào (trường hợp tự tiêu hoặc bệnh lý).

Nhiều enzim hoạt động kèm nhau theo dây chuyền được sắp xếp trật tự trên các màng nội bào. Ví dụ, rõ nhất là các hệ enzim của ty thể và lục lạp.

b) Điều hòa hoạt động theo mối liên hệ ngược

Nhiều hệ enzim hoạt động phối hợp theo kiểu dây chuyền nối

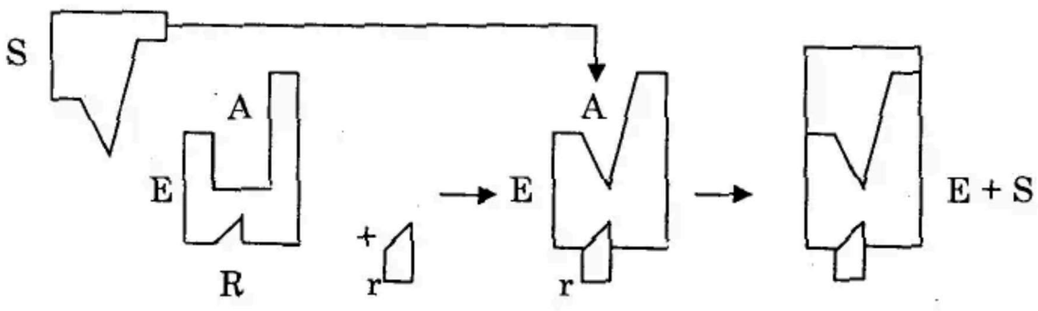
tiếp nhau. Các sản phẩm trung gian hoặc sản phẩm cuối cùng của dây chuyền sẽ là nhân tố hoạt hóa hoặc kìm hãm các enzim của phản ứng trước đó, hoặc sau đó của dây chuyền. Kiểu điều hòa hoạt động như thế được gọi là điều hòa theo mối liên hệ ngược (hình 6.8).



Hình 6.8. *Điều hòa hoạt động của enzim theo cơ chế mối liên hệ ngược*
A. Cơ chất ban đầu; E. Sản phẩm cuối cùng; B, C, D. Sản phẩm trung gian; e1, e2, e3, e4. Các enzim.

– Điều hòa dị hình không gian (allosteric):

Như chúng ta đã biết, muốn cho enzim hoạt động thì điều cần thiết là enzim phải có hình thù của trung tâm hoạt tính phù hợp với cấu hình của cơ chất mà nó xúc tác. Bằng cách điều chỉnh hình thù trung tâm hoạt tính của mình, enzim có thể ở trạng thái hoạt động hoặc bất hoạt. Cơ chế điều hòa bằng cách như vậy được gọi là điều hòa *dị hình không gian*. Thường thì trung tâm hoạt tính được điều chỉnh thay đổi hình thù thông qua trung tâm điều chỉnh, hay còn được gọi là trung tâm điều hòa dị hình (allosteric) bằng cách liên kết với các nhân tố điều chỉnh (hình 6.9).



Hình 6.9. *Điều hòa hoạt tính enzim theo cơ chế dị hình không gian*
S. Cơ chất; E. Enzim; A. Trung tâm hoạt tính; R. Trung tâm điều chỉnh; r. Chất điều chỉnh; E+S. Phức hệ enzim-cơ chất

4.6. Tính chất và vai trò của enzim

a) Tính chất của enzim

– Hoạt tính mạnh:

So sánh hoạt tính xúc tác của enzim *catalaza* với hoạt tính xúc tác của *sắt* khi xúc tác phân giải H_2O_2 để thấy rõ hoạt tính mạnh của enzim so với chất xúc tác vô cơ. Một phân tử catalaza chỉ cần một giây đã phân giải được một lượng H_2O_2 mà một phân tử sắt phải phân giải trong thời gian 300 năm.

Hoạt tính mạnh của enzim thường được biểu hiện bằng *số vòng quay (turnover number)*, tức là số phân tử cơ chất được chuyển hóa trong thời gian 1 giây bởi 1 phân tử enzim (bảng 6.2). Ví dụ, số vòng quay của enzim cacboanhydraza là 4×10^5, có nghĩa là mỗi phân tử enzim có khả năng chuyển hóa 400.000 phân tử CO_2 và H_2O thành H_2CO_3 trong 1 giây. Enzim cacboanhydraza đóng vai trò quan trọng trong sự loại trừ CO_2 là sản phẩm độc của sự trao đổi chất. Đa số enzim có số vòng quay vào khoảng 1000-10.000 lần.

Bảng 6.2. Chức năng và số vòng quay của một số enzim

Enzim	Chức năng	Số vòng quay (lần)
Chymotripxin	Phân giải protein	1×10^2
Penixilinaza	Phân giải penixilin	2×10^3
Cacboanhydraza	Xúc tác phản ứng: $CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3$	4×10^5
Catalaza	Phân giải: $2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$	4×10^7

– Tính chuyên hóa:

Các enzim khác nhau về tính chuyên hóa, nghĩa là đặc thù đối với cơ chất mà chúng tác động.

Đa số enzim có tính chuyên hóa tuyệt đối, ví dụ, enzim ureaza chỉ phân giải ure mà không tác động lên bất cứ chất nào khác. Một số enzim có tính chuyên hóa tương đối, nghĩa là có thể tác dụng lên nhiều cơ chất có cấu trúc gần giống nhau.

– Sự phối hợp hoạt động giữa các enzim:

Trong tế bào các enzim hoạt động theo kiểu dây chuyền, nghĩa là sản phẩm của phản ứng do enzim trước đó xúc tác sẽ là cơ chất cho phản ứng do enzim sau tác động. Ví dụ, trong hạt lúa mạch đang nảy

mầm, amilaza phân giải tinh bột thành maltozơ và maltaza sẽ phân giải tiếp maltozơ thành glucozơ.

$$\text{Tinh bột} \xrightarrow{\textit{amilaza}} \text{maltozơ} \xrightarrow{\textit{maltaza}} \text{glucozơ}$$

b) Định khu của enzim trong tế bào

Trong tế bào enzim có thể ở dạng hòa tan trong tế bào chất, ví dụ, các enzim của quá trình đường phân, hoặc được định khu trong các bào quan của tế bào, ví dụ, các enzim thủy phân có trong lizoxom, các enzim oxy hóa-khử của chu trình Crep có trong ty thể. Enzim được tổng hợp trong tế bào trên các riboxom và được sử dụng trong tế bào (được gọi là enzim nội bào), hoặc được tiết ra khỏi tế bào vào môi trường ngoại bào (được gọi là enzim ngoại bào). Ví dụ, vi khuẩn và nấm thường tiết ra các enzim ngoại bào để phân giải các chất dinh dưỡng. Động vật thường tiết ra các enzim ngoại bào như amilaza, pepsin... vào ống tiêu hóa để tiêu hóa thức ăn.

c)Vai trò của enzim trong trao đổi chất của tế bào

Vai trò của enzim trong cơ thể sống có thể tóm tắt ở 2 điểm:

– Xúc tác các phản ứng hóa học: Nhờ có tác động của enzim nên sự đồng hóa và dị hóa có thể xảy ra một cách nhanh chóng trong điều kiện nhiệt độ và áp suất bình thường của cơ thể. Nếu không có enzim thì các phản ứng sẽ không xảy ra hoặc xảy ra vô cùng chậm.

– Kiểm soát các phản ứng hóa học đặc biệt: Nhờ có tính đặc thù cao nên enzim kiểm soát được các phản ứng hoá học đặc biệt và điều chỉnh tốc độ phản ứng tương ứng với điều kiện trao đổi chất của cơ thể.

4.7. Những nhân tố ảnh hưởng đến hoạt tính của enzim

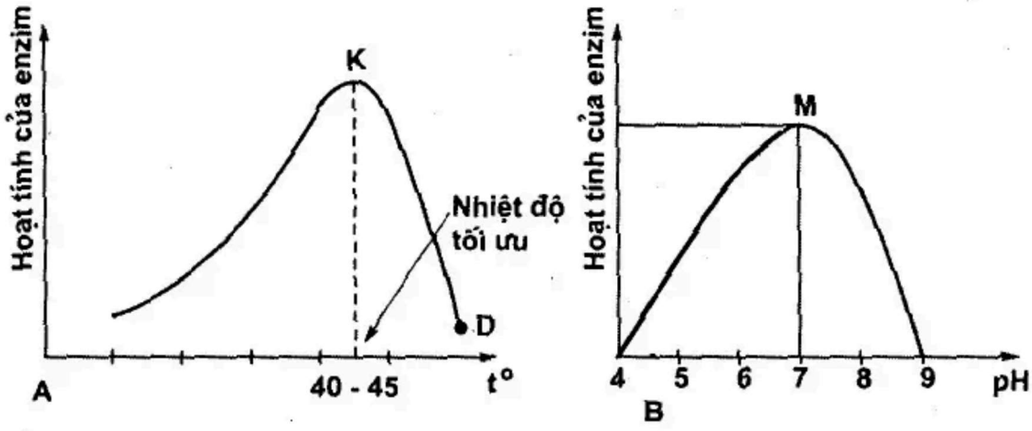
a)Nhiệt độ

Đa số enzim hoạt động ở nhiệt độ tối ưu là 40-45^{0}C, nhưng có một số enzim hoạt động trong điều kiện nhiệt độ bất thường 0^0 hoặc100^{0}C (các vi khuẩn cổ). Enzim không có hoạt tính ở nhiệt độ rất thấp, khi nhiệt độ tăng cao dần, hoạt tính của chúng cũng được tăng cao, ví dụ, chúng có thể tiêu hóa cùng một lượng thức ăn trong thời hạn ngắn hơn. Thường thường hoạt tính của enzim được tăng cao 2 lần khi nhiệt độ tăng lên 10^{0}C cho đến khi đạt tới nhiệt độ tối ưu (điểm K). Đối với đa số enzim nhiệt độ tối ưu vào khoảng 40 - 45^{0}C (hình 6.10A).

Ở nhiệt tối ưu hoạt tính của enzim đạt tối đa. Sau điểm K hoạt tính của enzim giảm dần cho tới điểm D thì enzim mất hoạt tính hoàn toàn. Đối với đa số enzim, nhiệt độ điểm D là 60°C, bởi vì ở nhiệt độ này enzim đã bị biến tính (không còn giữ cấu trúc không gian). Mỗi một enzim có nhiệt độ tối ưu riêng của mình. Đối với động vật đó là nhiệt độ cơ thể. Đối với một số thực vật và vi khuẩn, enzim có nhiệt độ tối ưu cao, ví dụ ở cây đu đủ, enzim papaza có nhiệt độ tối ưu đạt tới 65°C, ở vi khuẩn cổ ưa nhiệt nhiệt độ tối ưu 90-100°C.

b) Độ pH

Độ axit hoặc độ kiềm (độ pH) của dung dịch trong đó enzim hoạt động cũng gây ảnh hưởng đến hoạt tính của enzim. Đồ thị ở hình 6.10B chỉ ra độ pH gây ảnh hưởng đến hoạt tính của enzim amilaza.



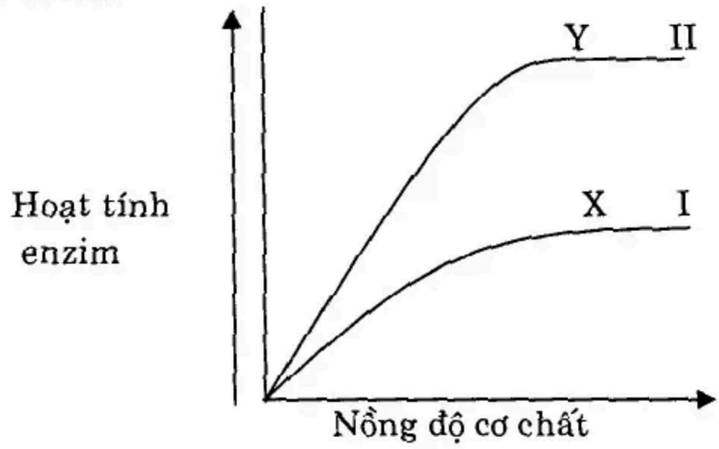
Hình 6.10. *Các nhân tố nhiệt độ (đồ thị A), độ pH (đồ thị B) gây ảnh hưởng đến hoạt tính của enzim. K; M. Hoạt tính tối ưu của enzim.*

Đối với enzim amilaza có hoạt tính tối đa ở pH = 7 (trung tính). Nếu dung dịch trở nên axit (dưới 7 đến 4), hoặc trở nên kiềm (từ 7 đến 9) hoạt tính của enzim bị giảm. Ở độ pH 4 và 9, enzim mất hoạt tính. Nhiều enzim hoạt động tốt trong điều kiện pH axit mạnh (ví dụ pepsin và rennin trong dạ dày), hoặc pH kiềm mạnh (ví dụ các enzim trong ruột non). Nếu độ pH tối ưu bị thay đổi sẽ dẫn đến kìm hãm hoặc phá hủy enzim.

c) Nồng độ cơ chất

Cơ chất là chất mà enzim tác động xúc tác. Ví dụ, tinh bột là cơ chất của enzim amilaza. Khi nồng độ cơ chất tăng thì hoạt tính của enzim tăng theo, nhưng còn tùy thuộc vào nồng độ của enzim.

Đồ thị ở hình 6.11 chỉ ra nồng độ của cơ chất ảnh hưởng đến hoạt tính của enzim.



Hình 6.11. *Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất lên hoạt tính của enzim (ở nhiệt độ 20°C)*

Khởi đầu khi nồng độ cơ chất tăng thì hoạt tính của enzim tăng cho đến điểm X (của đồ thị I). Về sau khi nồng độ cơ chất vẫn tăng nhưng hoạt tính của enzim không tăng. Tại sao vậy? Bởi vì tất cả phân tử enzim đã no hoặc được sử dụng hết trong cùng thời gian. Ví dụ, một phân tử enzim có thể tác động lên 10 phân tử cơ chất và sản sinh ra 10 phân tử sản phẩm trong 1 giây. Nếu có mặt 50 phân tử enzim thì chúng chỉ tác động lên 500 phân tử cơ chất và chỉ có 500 phân tử sản phẩm được sản sinh trong 1 giây (ở điểm X trên đồ thị I). Về sau dù nồng độ cơ chất có tăng cao nhưng nồng độ enzim cũng chỉ là 50 phân tử cho nên hiệu suất hoạt động của enzim không thể tăng thêm vì số phân tử enzim là có hạn (nhân tố hạn chế). Trong trường hợp nồng độ enzim tăng cao (ví dụ 100 phân tử) thì hiệu suất hoạt động cũng được tăng cao (sản sinh ra 1000 sản phẩm trong 1 giây - điểm Y ở đồ thị II). Khi đạt điểm hoạt tính tối đa (điểmY) hoạt tính của enzim sẽ không tăng thêm nữa vì bị hạn chế bởi nồng độ enzim dù nồng độ cơ chất vẫn tăng.

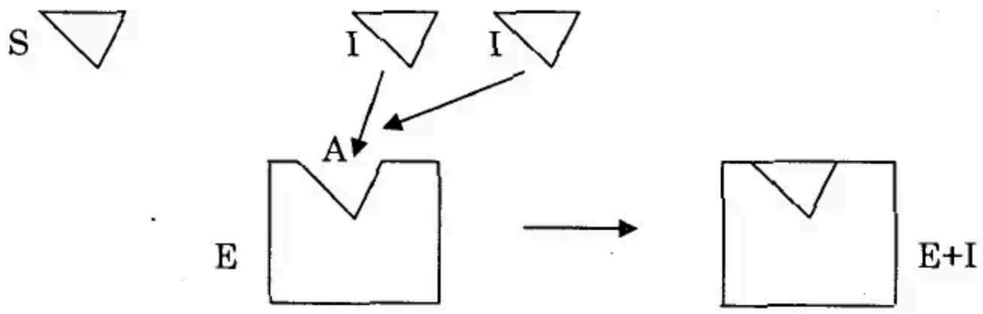
d) Các chất ức chế enzim

Hoạt tính của enzim có thể bị ức chế bởi tác động của nhiều chất khác nhau. Thường có hai loại ức chế:

– Các chất ức chế cạnh tranh:

Các chất này thường có cấu tạo hóa học và hình dạng khá giống với cơ chất. Khi có mặt cả cơ chất và chất ức chế sẽ xảy ra sự cạnh tranh về trung tâm hoạt tính và dẫn đến kìm hãm hoạt động của enzim. Ví dụ trường hợp của enzim sucxinatdehydrogenaza, là enzim

xúc tác một trong nhiều phản ứng chuyển hóa hóa năng lượng trong tế bào. Cơ chất của chúng là axit sucxinic và khi axit sucxinic bị enzim xúc tác, chúng sẽ biến thành axit fumaric. Axit malonic là chất ức chế cạnh tranh có tác động kìm hãm enzim vì chúng có cấu tạo giống với axit sucxinic nên tạm thời chiếm lĩnh mất trung tâm hoạt tính của enzim (hình 6.12). Bởi vì khi hình thành phức hệ enzim - chất ức chế thì chất ức chế (axit malonic) không bị biến đổi nên phức hệ enzim - chất ức chế rất bền vững và như vậy không còn trung tâm cho cơ chất nữa. Một lượng nhỏ chất ức chế cũng đã làm giảm mạnh tốc độ của phản ứng. Để khắc phục cần phải làm giảm nồng độ chất ức chế.



Hình 6.12. *Sự ức chế cạnh tranh kìm hãm hoạt tính của enzim*

S. Cơ chất; E. Enzim; A. Trung tâm hoạt tính; I. Chất ức chế;
E+I. Phức hệ enzim-chất ức chế, trung tâm hoạt tính bị chiếm bởi chất ức chế

– Các chất ức chế không cạnh tranh:

Các chất này khác với các chất ức chế cạnh tranh ở chỗ chúng không kết hợp với trung tâm hoạt tính của enzim và không chịu ảnh hưởng của nồng độ cơ chất. Các chất ức chế không cạnh tranh thường là các ion kim loại nặng, như ion thủy ngân (Hg^{2+}) và bạc (Ag^{+}). Các chất này kết hợp với phân tử enzim gây nên các biến đổi gián tiếp hình thù trung tâm hoạt tính làm cho nó không còn phù hợp với cấu hình của cơ chất. Nhiều chất độc như các muối arsen hoặc xyanit có tác động như thế.

4.8. Một số ứng dụng của enzim trong sản xuất và đời sống

a) Sử dụng enzim

Enzim là sản phẩm được sử dụng phổ biến nhất trong sản xuất và đời sống của con người. Enzim được sử dụng trong nông nghiệp, y dược và công nghiệp: từ công nghiệp thực phẩm, công nghiệp dệt, làm giấy, công nghiệp hóa chất, mỹ phẩm, bột giặt...

chất lượng bò thịt tại Vĩnh Phúc

Bảng 6.3. Công dụng của một số loại enzim

Loại enzim	Công dụng	Nguồn sản sinh
α-amilaza	Thủy phân tinh bột (CN thực phẩm, CN dệt, CN giấy).	*Aspergillus oryzae* *Bacillus licheniformis* *Bacillus amyloliquefaciens*
Xenlulaza	Chế biến rau quả.	*Aspergillus sp.* *Trichoderma reesei* *Penicillum sp.*
Glucoamilaza	Sản xuất xiro gluco	*Aspergillus niger* *Rhizopus sp.*
Glucoisomeraza	Sản xuất xiro fruco	*Actinoplanes microsouriensis.* *Streptomyces sp.*
Lactaza	Thủy phân đường lacto	*Saccharomyces sp.*
Lipaza	Cải tiến hương vị bơ, phomat, xử lý dầu mỡ, sản xuất bột tẩy rửa, xà phòng...	*Asperillus sp.* *Mucor sp.* *Rhyzopus sp.*
Pectinaza	Chiết xuất và làm trong nước hoa quả.	*Aspergillus niger.*
Penixilinamidaza	Sản xuất penixilin bán tổng hợp.	*Bacillus megaterium.* *Escherichia coli.*
Proteaza kiềm	Sản xuất bột tẩy rửa, xà phòng.	*B. licheniformis*
Proteaza trung tính	Làm nở bột mì, lên men rượu.	*B. amylbliquefaciens*
Proteaza axit	Sản xuất phomat	*Endothea parasitica* *Mucor miechei*
Pullunaza	Sản xuất xiro, đường	*Klebsiella pneomoniae* *B. acidopullulyticus.*

Ngoài ra enzim còn được sử dụng trong nghiên cứu sinh học và y dược. Công nghệ gen đã sử dụng các enzim restricaza và ligaza như dụng cụ cắt nối ADN tạo nên các gen tái tổ hợp. Enzim ADN-polimeraza được sử dụng trong kỹ thuật PCR để nhân bản ADN. Một số enzim được dùng để chẩn đoán bệnh và điều trị bệnh như các enzim như ureaza, nucleaza, asparaginaza...

b) Sản xuất enzim

Ngày nay enzim đã được sản xuất ở quy mô công nghiệp bằng

quá trình nuôi cấy vi sinh vật trên dây chuyền tự động trong các lò phản ứng sinh học. Người ta đã sử dụng công nghệ gen để tạo ra nhiều giống vi sinh vật, để chuyển gen nhằm mục đích tạo nhiều sản phẩm enzim đáp ứng nhu cầu sử dụng trong sản xuất và đời sống. Nhiều loại enzim được sản xuất với khối lượng lớn như: proteaza từ vi khuẩn: 500 tấn/năm, glucoamilaza: 300 tấn/năm, α-amilaza: 300 tấn/năm, glucoisomeraza: 50 tấn/năm.

Chương VII

CÁC PHƯƠNG THỨC CHUYỂN HÓA NĂNG LƯỢNG Ở TẾ BÀO

A- HÔ HẤP TẾ BÀO

I- BA GIAI ĐOẠN HÔ HẤP TẾ BÀO. PHÂN GIẢI GLUCOZƠ

Tế bào sống phân giải các chất hữu cơ chứa thế năng để tổng hợp ATP - dạng năng lượng sử dụng cho các quá trình sống như tổng hợp chất, sinh trưởng, phát triển, sinh sản... Quá trình chuyển hóa năng lượng đó được gọi là sự hô hấp tế bào. Chất hữu cơ cung cấp năng lượng có thể là cacbohydrat, lipit, protein... , nhưng trong đa số tế bào, glucozơ là nhiên liệu phổ biến nhất, cho nên ở đây ta xem xét sự phân giải glucozơ như là mô hình chung của hô hấp tế bào.

Quá trình phân giải glucozơ là quá trình oxy - hóa khử bao gồm các phản ứng hóa học trong đó có sự chuyền electron từ chất phản ứng này sang chất phản ứng khác. Trong phản ứng oxy hóa-khử, sự giải phóng electron từ một chất nào đó được gọi là *sự oxy hóa*, còn sự nhận electron bởi một chất nào đó được gọi là *sự khử*. Chất cho (mất) electron (bị oxy hóa) được gọi là *nhân tố khử* (reducing agent), còn chất nhận electron (bị khử) được gọi là *nhân tố oxy hóa* (oxidizing agent). Ví dụ, phản ứng oxy hóa - khử của hô hấp là:

$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$, trong đó glucozơ bị oxy hóa, còn O_2 bị khử. Glucozơ là nhân tố khử, còn O_2 là nhân tố oxy hóa. Nhân tố oxy hóa ở đây là oxy, nhưng trong nhiều phản ứng oxy hóa - khử khác, chất oxy hóa tức là chất nhận electron có thể là chất nào đó chứ không nhất thiết phải là oxy.

Quá trình hô hấp tế bào gồm 3 giai đoạn diễn ra kế tiếp nhau:

– Đường phân là giai đoạn phân giải glucozơ thành axit piruvic.

– Chu trình Crep là giai đoạn oxy hoá-khử axit piruvic để giải phóng electron.

– Chuỗi chuyền electron và tổng hợp ATP.

Phương trình chung của sự phân giải glucozơ được trình bày như sau:

$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$ + Năng lượng (ATP + nhiệt)

Năng lượng được giải phóng từ phân giải glucozơ được tế bào sử dụng để tổng hợp ATP từ ADP + P, một phần năng lượng được biến thành nhiệt. Để hiểu được quá trình chuyển hóa năng lượng trên đây, ta xem xét 3 giai đoạn của hô hấp tế bào.

1.1. Đường phân

Đường phân là giai đoạn thứ nhất trong sự phân giải glucozơ, trong đó một phân tử glucozơ (6 cacbon) bị oxy hóa phân giải thành 2 phân tử axit piruvic (3 cacbon), một phần năng lượng giải phóng được tế bào tích vào ATP.

Glucozơ —> 2 axit piruvic + $2H_2O$

4ATP được hình thành, nhưng 2ATP bị sử dụng cho quá trình, vì vậy tích luỹ được 2ATP. Đồng thời 4 electron được giải phóng và NAD^+ (nicotinamidadenindinucleotit) bị khử thành NADH:

$NAD^+ + 4e^- + 4H^+ \longrightarrow 2NADH + 2H^+$

Thực ra quá trình đường phân rất phức tạp, gồm 10 giai đoạn (10 phản ứng) diễn ra trong bào tương, mỗi giai đoạn được xúc tác bởi enzim đặc thù, nhưng kết quả là qua đường phân tế bào tích luỹ được 2ATP và 2NADH. Ta thấy không có CO_2 được sản sinh trong đường phân. Đường phân có thể xảy ra với sự thiếu vắng oxy hoặc với sự có oxy. Khi có oxy, axit piruvic sẽ đi vào chu trình Crep để tiếp tục quá trình phân giải. Đối với vi khuẩn kỵ khí thì đường phân (được gọi là sự lên men) là giai đoạn độc nhất để giải phóng năng lượng và tích chúng vào ATP, ví dụ, sự lên men rượu, lên men axit lactic.

1.2. Chu trình Crep

Trong trường hợp có oxy, axit piruvic sẽ xâm nhập vào chất nền ty thể. Ở đây nhờ hệ enzim có trong chất nền của ty thể, axit piruvic sẽ bị tiếp tục oxy hóa - khử và năng lượng được giải phóng sẽ được chuyển hóa vào ATP. Đầu tiên 2 axit piruvic chuyển hóa thành 2 axetil coenzim A (axetil coA) và sản sinh ra $2CO_2$ và 2NADH. Tiếp

theo 2 axetil coA đi vào chu trình axit citric (hay còn gọi là chu trình axit tricacboxilic hay là chu trình Crep vì do ông Hans Krebs phát hiện đầu tiên). Được gọi là chu trình axit citric vì sản phẩm đầu tiên từ sự oxy hóa axetil coA là axit citric và sản phẩm cuối cùng cũng là axit citric. Chu trình axit citric diễn ra trong chất nền ty thể gồm 8 giai đoạn (phản ứng) và được xúc tác bởi 8 enzim đặc thù và kết quả là năng lượng được giải phóng được tích vào 2 ATP, 8 electron được giải phóng trong đó 6 electron sẽ khử 6 NAD^+ thành 6NADH và 2 electron sẽ khử 2FAD^+ (flavinadenindinucleotit) thành 2$FADH_2$, đồng thời giải phóng 4CO_2. Kết quả của chu trình Crep là 2 phân tử axit piruvic bị oxy hóa - khử sẽ sản sinh được 2ATP. Số năng lượng còn lại được tích trong 6NADH và 2$FADH_2$.

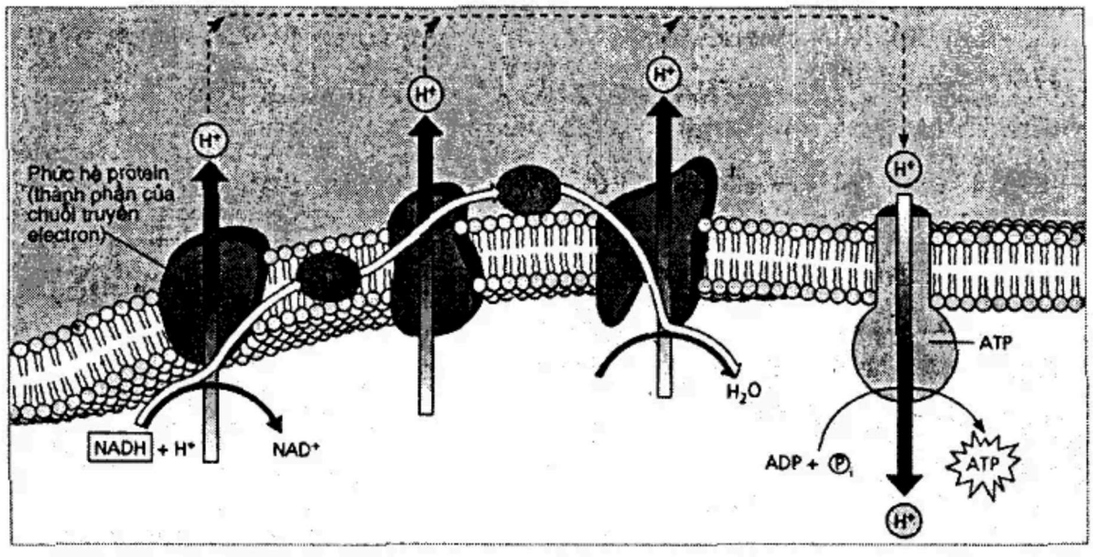
1.3. Quá trình oxy – photphorin hóa

Quá trình oxy - photphorin hóa là quá trình chuyển hóa năng lượng tích trong NADH và $FADH_2$ vào trong ATP thông qua chuỗi chuyền electron và tổng hợp ATP được thực hiện ở màng trong của ty thể.

a) Chuỗi chuyền electron

Chuỗi chuyền electron bao gồm 4 phức hệ đa protein định vị ở màng trong của ty thể (được gọi theo thứ tự từ I - IV) (hình 7.1) Màng troĩg của ty thể tạo nên các mào do đó làm tăng diện tích của màng dẫn tới tăng cao số lượng chuỗi chuyền electron chứa trong màng lên hàng nghìn chuỗi/một ty thể. Các chất chuyền electron đóng vai trò như những chất nhận và cho electron. Ta đã biết là qua quá trình đường phân và chu trình Crep, các electron được giải phóng đã được tích vào NADH và $FADH_2$ có mặt trong chất nền. NADH sẽ chuyền electron cho flavoprotein FMN (được gọi theo tên của nhóm không phải protein là FMN - flavin mononucleotit) có trong phức hệ I. Trong phức hệ I, FMN sẽ chuyền electron cho protein Fe-S (protein chứa sắt và lưu huỳnh), protein Fe - S sẽ chuyền electron cho ubikinon Q. Ubikinon Q là chất nhận electron (không phải protein) có mặt trong màng nhưng thường không chứa trong phức hệ. Một mặt khác $FADH_2$ chuyền electron cho protein Fe - S của phức hệ II, protein Fe - S lại chuyền electron cho ubikinon Q. Dòng electron từ ubikinon Q được chuyền cho các chất của phức hệ III bao gồm các cytocrom b, c1, tiếp đó electron được chuyền qua cytocrom c (một

protein không nằm trong màng mà ở dạng hòa tan trong chất nền cạnh màng) đến phức hệ IV bao gồm các cytocrom a và a3 (còn được gọi là cytocrom oxydaza). Cytocrom là những protein có chứa nhóm hem chứa Fe (giống hem của hemoglobin của máu), nhờ nguyên tử Fe chúng có khả năng nhận electron và chuyền electron. Cuối cùng cytocrom a3 chuyền electron cho oxy. Oxy là người nhận electron cuối cùng trong chuỗi chuyền electron. Oxy liên kết với hydro tạo nên nước H_2O. Mục đích của dãy chuyền electron là kìm hãm tốc độ "rơi năng lượng" của electron từ NADH và $FADH_2$ đến oxy, từ đó năng lượng trong electron được giải phóng từ từ, từng phần nhỏ một qua nhiều chặng của chuỗi. Nếu như năng lượng trong electron giải phóng từ NADH và $FADH_2$ được chuyền ngay cho oxy sẽ xảy sự "bùng nổ nhiệt" đốt cháy tế bào. Một vấn đề đặt ra là: qua quá trình chuyền electron, năng lượng được giải phóng từ từ, từng phần một, nhưng số năng lượng này sẽ được tích vào ATP như thế nào? Sự tổng hợp ATP được kèm theo chuỗi chuyền electron và diễn ra nhờ phức hệ protein-enzim ATP-sintetaza (được gọi là phức hệ Fo - F1) khu trú trong màng trong của ty thể theo cơ chế hóa thẩm thấu.

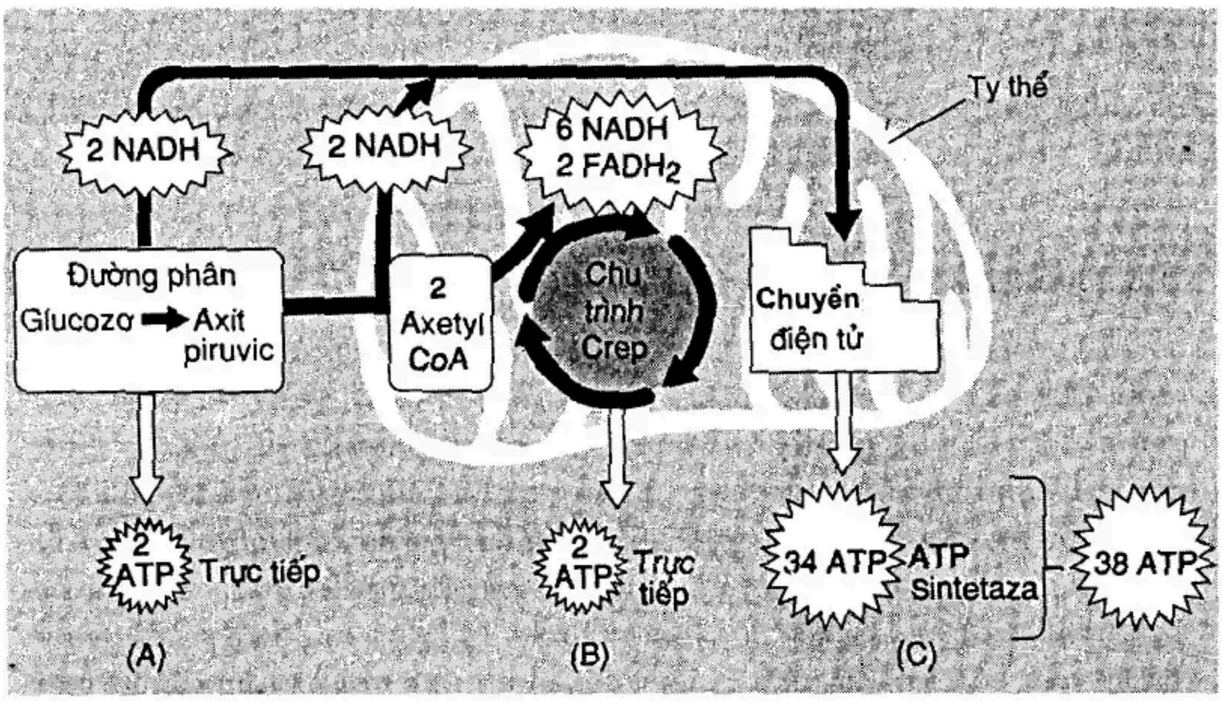


Hình 7.1. Các thành phần của chuỗi hô hấp được định vị trên màng trong của ty thể

b) Sự tổng hợp ATP. Cơ chế hóa thẩm thấu

Sự tổng hợp ATP được kèm theo chuỗi chuyền electron nhờ phức hệ ATP-sintetaza trong màng trong (màng của mào) ty thể. ATP-

sintetaza hoạt động như một bơm ion H^+. Sự chuyền electron qua chuỗi tạo nên lực để vận tải proton (H^+) từ chất nền qua màng vào xoang gian màng, và như vậy đã tạo nên gradien H^+ (sai khác nồng độ H^+) giữa hai phía đối lập của màng trong (giữa xoang gian màng và xoang chất nền), tức là tạo nên điện thế màng. Lực điện thế màng này tạo nên dòng H^+ từ xoang gian màng đi xuyên qua phức hệ ATP-sintetaza vào chất nền và là động lực thúc đẩy ATP-sintetaza hoạt động tổng hợp ATP từ ADP và P có trong chất nền. Cơ chế này được gọi là cơ chế *hóa thẩm thấu* (chemiosmosis) của sự tổng hợp ATP trong màng ty thể (được Peter Mitchell phát kiến và ông đã được giải thưởng Nobel vào năm 1978). ATP-sintetaza là phức hệ protein gồm 2 đơn vị cấu thành. Một đơn vị gồm nhiều polipeptit tạo thành. Một đơn vị tạo nên cái cuống nằm trong màng trong, một đơn vị khác tạo nên cái mũ nằm nhô ra trong xoang nền (vì vậy ATP-sintetaza có dạng hình nấm với kích thước khoảng 11nm). Khi có dòng H^+ đi từ xoang gian màng vào chất nền, xuyên qua phần cuống tạo nên lực làm xoay phần cuống (hoạt động như một máy rotor nano), đồng thời làm xoay phần mũ hoạt động như một chiếc bàn xoay thu hút ADP và P liên kết với nhau tạo nên ATP (hình 7.2).



Hình 7.2. *Sơ đồ ba giai đoạn của hô hấp tế bào*

1.4. Hiệu suất sử dụng năng lượng của hô hấp tế bào

Qua 3 quá trình: đường phân, chu trình Crep và chuỗi chuyền electron kèm theo sự tổng hợp ATP chúng ta thấy:

– Phân tử glucozơ bị phân giải qua nhiều giai đoạn và năng lượng được giải phóng đã được tích vào ATP.

– Qua đường phân tạo nên 2ATP và 2NADH.

– Qua chu trình Crep tạo nên 2ATP, 6NADH và $2FADH_2$.

– Qua chuỗi chuyền electron, các electron tích trong NADH và $FADH_2$ được chuyền qua chuỗi chuyền electron và với cơ chế hóa thẩm thấu đã tạo nên từ 32 đến 34ATP.

– Tổng kết lại tổng số ATP được tạo ra là: 2ATP (từ đường phân) + 2ATP (từ chu trình Crep) +32 hoặc 34ATP (từ chuỗi chuyền electron và tổng hợp ATP nhờ ATP-sintetaza) = 36 hoặc 38ATP. Đạt hiệu suất 36 hay 38ATP là tùy thuộc vào loại tế bào. Ví dụ, đối với tế bào nơron, hiệu suất là 36ATP còn đối với tế bào gan hoặc tế bào cơ tim đạt 38ATP.

– Hiệu suất chuyển hóa năng lượng của quá trình hô hấp là: một mol glucozơ khi bị phân giải sẽ giải phóng 686kcal. Số năng lượng cần tích vào ATP là 7,3kcal/mol. Như vậy trong 38ATP đã tích được: 38 x 7,3 = 277,4kcal. Hiệu suất chuyển hóa năng lượng sẽ là: (277,4/686) ≈ 0,4. Như vậy có khoảng 40% năng lượng được chuyển hóa từ glucozơ sang ATP. Số 60% năng lượng còn lại được chuyển thành nhiệt (ví dụ, cơ thể chúng ta sử dụng một phần số nhiệt năng để duy trì thân nhiệt 37°C), số còn lại bị thoát ra môi trường.

1.5. Quá trình lên men (fermentation)

Như trên đã trình bày, sự phân giải glucozơ đến tận cùng để tổng hợp ATP xảy ra với sự có mặt của oxy như là chất nhận electron cuối cùng. Nếu không có oxy thì quá trình oxy - photphorin hóa bị đình trệ. Tuy nhiên có nhiều dạng tế bào oxy hóa chất hữu cơ để tích lũy ATP không cần đến oxy, đó là sự lên men. Ta đã biết qua quá trình đường phân, glucozơ bị oxy hóa phân giải thành 2 phân tử piruvat (piruvat là dạng ion hóa của axit piruvic) không cần đến oxy (cần nhớ là sự oxy hóa không nhất thiết phải phản ứng với oxy mà là sự giải phóng electron và proton từ một chất nào đó). Như vậy ở đây chất nhận electron (nhân tố oxy hóa) là NAD^+ chứ không phải oxy. Chất

NAD^+ khi nhận electron (nhận proton) sẽ biến thành NADH (nhân tố khử), một số năng lượng được giải phóng được sử dụng để tổng hợp 2 phân tử ATP. Nếu có oxy, piruvat sẽ được tiếp tục oxy hóa trong ty thể. Sự lên men là một trường hợp biến đổi của quá trình đường phân trong điều kiện thiếu oxy (kỵ khí). Trong điều kiện không có oxy, piruvat không đi vào quá trình oxy - photphorin hóa mà sẽ bị biến đổi thành các sản phẩm cuối cùng khác nhau: ancol (sự lên men rượu) hoặc axit lactic (sự lên men axit lactic).

a) Sự lên men rượu là sự lên men trong đó sản phẩm cuối cùng là ancol (rượu ethanol). Quá trình lên men rượu bao gồm đường phân tạo ra piruvat, sau đó piruvat chuyển hóa thành axetaldehit (2C) với sự giải phóng CO_2, Tiếp theo axetaldehit bị khử bởi NADH để tạo thành ethanol và tái sinh NAD^+. NAD^+ được tái sử dụng cho đường phân tiếp tục. Đa số vi khuẩn, nấm men thực hiện sự lên men rượu trong điều kiện kỵ khí để tích lũy năng lượng vào ATP. Con người sử dụng vi khuẩn và nấm men trong công nghệ lên men sản xuất rượu bia, làm bánh mì...

b) Sự lên men axit lactic là sự lên men trong đó sản phẩm cuối cùng là axit lactic. Trong sự lên men axit lactic, piruvat bị khử trực tiếp bởi NADH để tạo thành axit lactic với sự giải phóng CO_2. Sự lên men axit lactic quan sát thấy ở một số vi khuẩn và nấm, và chúng được sử dụng trong công nghệ sản xuất phomat, sữa chua.

Đối với cơ thể người, trong tế bào cơ khi thiếu oxy quá trình đường phân sẽ chuyển thành quá trình lên men axit lactic và khi đó piruvat sẽ chuyển thành axit lactic. Axit lactic là chất độc tích lũy nhiều trong cơ thể gây nên mệt mỏi và đau đớn (ví dụ khi ta chạy nước rút 100m, leo nhanh cầu thang nhiều bậc), nhưng bình thường axit lactic được chuyên chở đến gan nhờ dòng máu, trong gan chúng lại được chuyển hóa thành piruvat để cơ thể sử dụng.

c) So sánh sự lên men với hô hấp tế bào

– Giống nhau:

+ Đều thông qua quá trình đường phân để phân giải glucozơ thành piruvat và tổng hợp được 2 phân tử ATP.

+ Đều sử dụng chất NAD^+ làm chất nhận electron để tạo thành NADH.

– Khác nhau:

+ Trong cơ chế oxy hóa NADH thành NAD^+. Đối với lên men,

chất nhận electron cuối cùng là piruvat (trong sự lên men axit lactic), hoặc là axetaldehit (trong sự lên men rượu). Trái lại, đối với hô hấp, chất nhận electron cuối cùng là oxy.

+ Trong cơ chế chuyển hóa năng lượng: Đối với hô hấp, sự chuyền electron từ NADH sang oxy không chỉ để khôi phục NAD^+ mà còn là động lực để tạo được nhiều ATP hơn. Nếu so sánh hiệu suất chuyển hóa năng lượng, thì hô hấp sản sinh số lượng ATP nhiều hơn 19 lần so với lên men (38ATP/2ATP).

d) Tiến hóa của đường phân

Có thể xem đường phân là dạng chuyển hóa năng lượng cổ sơ nhất. Các cơ thể nhân sơ đầu tiên (xuất hiện cách đây khoảng 3,5 tỷ năm) sinh sống trong điều kiện chưa có oxy (oxy trong khí quyển chỉ xuất hiện khi xuất hiện các vi khuẩn lam cách đây khoảng 2,5 - 2,7 tỷ năm), chúng sử dụng đường phân để tạo ATP không cần đến oxy. Đường phân được thực hiện trong tế bào chất không cần đến bào quan. Các cơ thể nhân sơ hiện nay tiếp tục sử dụng đường phân ở dạng lên men, còn cơ thể nhân chuẩn sử dụng đường phân như là giai đoạn đầu tiên của quá trình hô hấp tế bào.

II- PHÂN GIẢI LIPIT, PROTEIN VÀ AXIT NUCLEIC

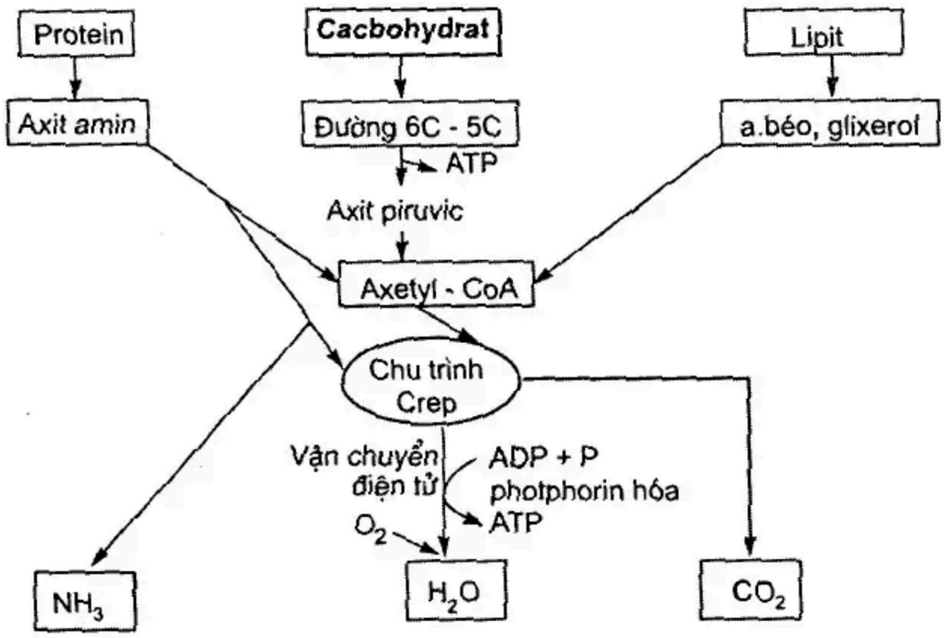
Ngoài glucozơ, các chất hữu cơ khác như lipit, protein và axit nucleic cũng được tế bào phân giải để cung cấp năng lượng thông qua ATP.

2.1. Phân giải lipit: Dưới sự tác dụng của các enzim lipaza, lipit được phân giải thành glixerol và axit béo. Glixerol cũng như axit béo được biến đổi rồi đi vào chu trình Crep để tạo năng lượng ATP.

2.2. Phân giải protein: Dưới tác dụng của các enzim thuỷ phân, protein bị phân giải thành các axit amin. Axit amin bị biến đổi rồi đi vào chu trình Crep để tạo năng lượng ATP.

2.3. Phân giải axit nucleic: ADN cũng như ARN được các enzim phân giải thành các nucleotit. Nucleotit bị biến đổi rồi đi vào chu trình Crep để tạo ra năng lượng ATP.

Có thể tóm tắt các quá trình phân giải các chất qua sơ đồ sau (hình 7.3):



Hình 7.3. *Sơ đồ phân giải protein, cacbohydrat, lipit*

B- HOÁ TỔNG HỢP

I- KHÁI QUÁT VỀ HOÁ TỔNG HỢP

Hoá tổng hợp là phương thức dinh dưỡng của nhóm vi sinh vật hoá tự dưỡng, gồm các sinh vật sử dụng nguồn cacbon vô cơ (CO_2) và nguồn năng lượng từ các phản ứng hoá học. Phương trình tổng quát của hoá tổng hợp là oxy hoá chất vô cơ để giải phóng năng lượng và sử dụng một phần năng lượng được giải phóng để tổng hợp chất hữu cơ từ các chất vô cơ.

A (chất vô cơ) + O_2 → AO_2 + năng lượng

CO_2 + RH_2 + năng lượng → chất hữu cơ.

II- CÁC NHÓM VI KHUẨN HOÁ TỔNG HỢP

Phương thức dinh dưỡng bằng hoá tổng hợp đặc trưng cho vi khuẩn và rất đa dạng. Người ta thường phân biệt các nhóm sau đây.

2.1. Vi khuẩn chuyển hoá các hợp chất chứa nitơ

Đây là nhóm đông nhất gồm hai loại chủ yếu:

– Các vi khuẩn nitrit hoá như *Nitrosomonas*. Chúng oxy hoá NH_3 thành axit nitrit để lấy năng lượng:

$2NH_3 + 3O_2 \rightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + 158kcal$

6% năng lượng giải phóng được vi khuẩn sử dụng để tổng hợp glucozơ từ CO_2.

– Các vi khuẩn nitrat hoá như *Nitrobacter*. Chúng oxy hoá HNO_2 thành HNO_3:

$2HNO_2 + O_2 \rightarrow 2HNO_3 + 38kcal$

7% năng lượng giải phóng được vi khuẩn sử dụng để tổng hợp glucozơ từ CO_2.

Nhờ hoạt động nối tiếp của hai nhóm vi khuẩn chuyển hoá nitơ cho nên đất mới tích luỹ được nhiều muối nitrat hoà tan, là dạng thực vật có thể hấp thu được. Chính vì vậy đất chứa nhiều vi khuẩn chuyển hoá nitơ là đất phì nhiêu có lợi cho cây trồng.

2.2. Vi khuẩn chuyển hoá các hợp chất chứa lưu huỳnh

Nhóm vi khuẩn này được gọi là vi khuẩn lưu huỳnh có khả năng oxy hoá sunphua hydro (H_2S) thành axit sunphuric (H_2SO_4) và tạo ra năng lượng rồi sử dụng một phần năng lượng đó để tổng hợp chất hữu cơ từ CO_2.

$2H_2S + O_2 \rightarrow 2H_2O + 2S + 115kcal$

$2S + 2H_2O + 3O_2 \rightarrow 2H_2SO_4 + 283,3kcal$

2.3. Nhóm vi khuẩn chuyển hoá các hợp chất chứa sắt

Nhóm vi khuẩn này được gọi là nhóm vi khuẩn sắt. Chúng lấy năng lượng từ phản ứng oxy hoá sắt hoá trị 2 thành sắt hoá trị 3:

$4FeCO_3 + O_2 + 6H_2O \rightarrow 4Fe(OH)_3 + 4CO_2 + 81kcal$

Một phần năng lượng giải phóng được vi khuẩn sử dụng để tổng hợp chất hữu cơ.

2.4. Nhóm vi khuẩn lấy năng lượng từ hydro

Nhiều vi khuẩn được gọi là vi khuẩn hydro có khả năng oxy hoá hydro phân tử (H_2) và sử dụng một phần năng lượng được giải phóng để tổng hợp chất hữu cơ.

C- QUANG HỢP

I- KHÁI NIỆM VỀ QUANG HỢP

Quang hợp là phương thức dinh dưỡng của các sinh vật có khả năng chuyển hóa quang năng thành hóa năng tích trong các chất hữu cơ. Quang hợp không chỉ là phương thức dinh dưỡng đặc trưng cho tảo và thực vật mà còn có ở các vi khuẩn quang hợp và vi khuẩn lam. Các sinh vật quang hợp là những sinh vật sản xuất và chúng cung cấp nguồn chất hữu cơ cho các sinh vật tiêu thụ trong sinh giới.

Phương trình tổng quát của quá trình quang hợp ở cây xanh như sau:

$$6CO_2 + 12H_2O + \text{quang năng} \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O$$

trong đó chất cacbohydrat được tạo thành là glucozơ. H_2O có cả ở hai vế vì tế bào sử dụng 12 phân tử H_2O, nhưng lại sản sinh ra 6 phân tử H_2O qua quá trình quang hợp.

II- SẮC TỐ QUANG HỢP VÀ LỤC LẠP

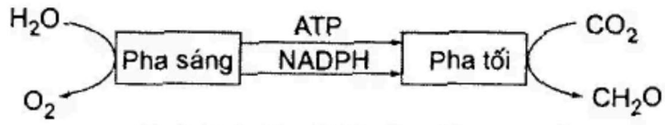
Vi khuẩn cũng như tảo và thực vật có khả năng quang hợp là nhờ có các sắc tố quang hợp. Đối với tảo và thực vật, sắc tố quang hợp chủ yếu là chất diệp lục có màu lục (clorophyl), ngoài ra còn có chất sắc tố vàng, da cam (carotenoit) và sắc tố xanh mật (phicobilin). Các sắc tố chứa trong màng tilacoit của lục lạp. Nhờ các sắc tố chứa trong lục lạp mà cây xanh có khả năng hấp thụ ánh sáng mặt trời và chuyển hoá thành năng lượng tích trong chất hữu cơ.

Ở vi khuẩn quang hợp, thì sắc tố là bacteriorodopxin, bacterioclorophyl, hoặc bacteriopheophitin định khu trong màng sinh chất vì chúng chưa có lục lạp. Đối với vi khuẩn lam thì hệ sắc tố clorophyl không được định khu trong lục lạp (vì chúng không có lục lạp) mà định khu trong các màng tilacoit riêng lẻ nằm rải rác trong tế bào chất.

III- CÁC PHA CỦA QUANG HỢP

Quá trình quang hợp là một chuỗi dài các phản ứng phức tạp gồm hai pha: pha sáng và pha tối.

Sơ đồ 2 pha của quang hợp (hình 7.4):

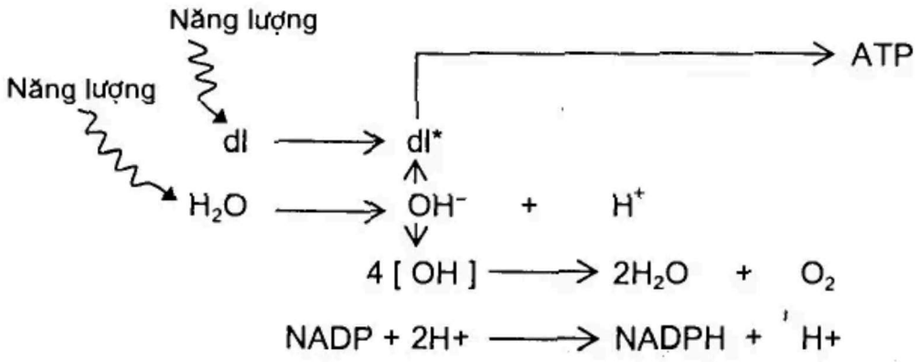


Hình 7.4. Sơ đồ 2 pha của quang hợp

3.1. Pha sáng

Trong pha sáng, chất clorophyl hấp thụ các quang tử (photon), một số electron được giải phóng khỏi quỹ đạo, các electron giải phóng được chuyền qua chuỗi chuyền electron khu trú trong màng tilacoit của lục lạp. Sự chuyền electron đã tạo nên một thế năng dẫn đến sự tổng hợp ATP nhờ phức hệ ATP-sintetaza có trong màng tilacoit.

Trong pha sáng, dưới tác động của ánh sáng, nước được phân ly để cung cấp electron bù đắp cho số electron bị giải phóng khỏi clorophyl. Sản phẩm của quang phân nước là O_2 và các proton (H^+). Các electron được chuyền cho $NADP^+$ và $NADP^+$ biến thành NADPH; ATP và NADPH là nguồn năng lượng và lực khử cần cho giai đoạn tối. Pha sáng được biểu diễn ở sơ đồ hình 7.5.



Hình 7.5. Sơ đồ pha sáng của quang hợp

dl: diệp lục (clorophyl) ở trạng thái gốc; dl*: diệp lục ở trạng thái kích thích.

3.2. Hệ quang hợp

Hệ quang hợp được xem như đơn vị quang hợp có chức năng thu bắt photon từ ánh sáng mặt trời, chứa trong màng tilacoit, bao gồm phức hệ protein chứa các sắc tố được gọi là *phức hệ thu bắt photon*. Phức hệ thu bắt photon bao gồm protein đặc thù liên kết với các phân tử sắc tố khác nhau (clorophyl a, clorophyl b và carotinoit).

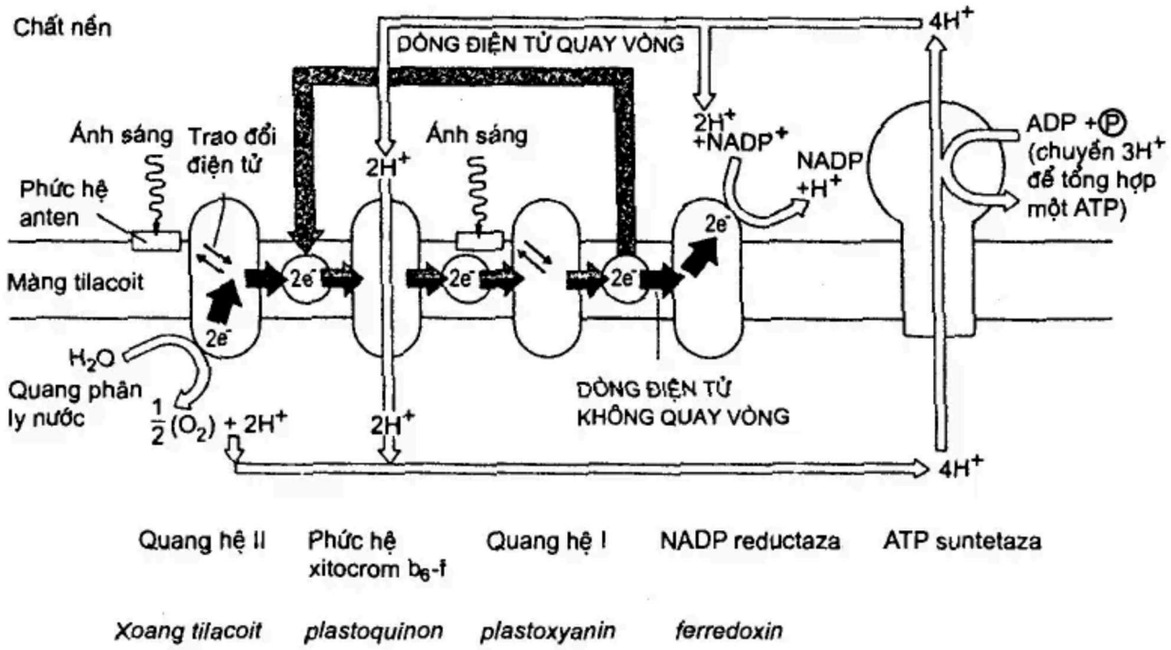
Trong phức hệ thu bắt photon có chứa *trung tâm phản ứng*. Trung tâm phản ứng là protein chứa 2 phân tử clorophyl a và chất nhận electron đầu tiên. Phức hệ thu bắt photon đóng vai trò như dàn anten thu bắt các photon. Khi một phân tử sắc tố thu nhận một photon thì năng lượng được chuyển từ phân tử sắc tố này sang các

sắc tố khác và cuối cùng chuyển vào cho 2 phân tử chlorophyl a trong trung tâm phản ứng. Khi clorophyl a thu nhận photon, electron của chúng bị giải phóng ra khỏi quỹ đạo. Bình thường nếu chúng ta tách clorophyl khỏi lục lạp và để trong ống nghiệm thì khi chúng hấp thụ photon, electron được giải phóng sẽ nhanh chóng trở về quỹ đạo và năng lượng photon sẽ chuyển hóa thành nhiệt và phát quang. Nhưng trong trung tâm phản ứng, electron được giải phóng không trở về trạng thái gốc ban đầu vì chúng được chuyền cho chất nhận đầu tiên có trong trung tâm. Trong màng tilacoit của lục lạp thường chứa 2 hệ quang hợp: hệ quang hợp I và hệ quang hợp II, sai khác nhau ở trung tâm phản ứng về clorophyl a và protein liên kết với chúng. Trong hệ quang hợp II, clorophyl a có bước sóng 680nm (được gọi là P680); còn trong hệ quang hợp I, clorophyl a có bước sóng 700nm (được gọi là P700). Chúng ta hãy xem xét cơ chế hoạt động của 2 hệ quang hợp trong sự chuyển hóa năng lượng photon thành năng lượng tích trong ATP và NADPH của pha sáng. Khi electron được giải phóng, tùy theo con đường chuyền của chúng qua chuỗi chuyền electron, người ta phân biệt: dòng chuyền electron không vòng và dòng chuyền electron vòng.

a) Dòng chuyền electron không vòng bao gồm 8 giai đoạn: 1) 2 phân tử clorophyl a P680 trong hệ II hấp thụ photon và trở thành trạng thái kích thích, electron được giải phóng. 2) electron được thu bắt bởi chất nhận đầu tiên của trung tâm phản ứng. 3) phân tử nước bị phân ly thành 2 ion hydro và một nguyên tử oxy nhờ enzim. Electron được giải phóng từ sự phân ly nước được dùng để bù cho electron của P680 bị mất đi. Các nguyên tử oxy nhanh chóng liên kết với nhau tạo nên phân tử nước. 4) electron mang năng lượng kích thích do ánh sáng được chuyền từ hệ II sang hệ I thông qua chuỗi chuyền electron (hoạt động giống chuỗi chuyền electron của hô hấp trong ty thể) gồm plastokinon (Pq), phức hệ cytocrom và plastoxianin (Pc). 5) năng lượng được giải phóng do dòng electron "rơi" được sử dụng để tạo nên ATP nhờ phức hệ ATP-sintetaza định khu trong màng tilacoit. (6) Đồng thời, trong phức hệ I, 2 phân tử clorophyl a P700 của trung tâm phản ứng hấp thụ photon, electron được giải phóng và được chuyền ngay cho chất nhận đầu tiên của trung tâm phản ứng. "Lỗ hổng" electron của P700 được bù đắp bởi electron đến từ phức hệ II. (7) electron mang năng lượng kích thích do ánh sáng được chuyền từ chất nhận đầu tiên trong phức hệ I cho protein ferredoxin (Fd) định khu trong màng tilacoit. (8) enzim $NADP^+$ reductaza xúc tác chuyển electron từ Fd sang $NADP^+$ để tạo thành NADPH.

Sơ đồ phức tạp của 8 giai đoạn (hình 7.6) qua đó năng lượng ánh

sáng được hấp thụ bởi clorophyl và được chuyển hóa thành năng lượng tích trong ATP và NADPH, là các chất tích năng lượng được tế bào sử dụng để tổng hợp glucozơ trong pha tối của quang hợp.



Hình 7.6. *Tám giai đoạn của pha sáng của quang hợp ở thực vật*

b) Dòng chuyền electron vòng. Ngoài dòng electron không vòng, trong màng tilacoit còn tồn tại dòng chuyền electron vòng. Khác với dòng electron không vòng (sử dụng cả hai phức hệ II và I để tạo nên ATP và NADPH), dòng electron vòng chỉ sử dụng phức hệ I và chỉ tạo ra ATP. Dòng electron được chuyền từ P700 của trung tâm phản ứng của hệ I sang cho ferredoxin, qua cytocrom, plastoxianin lại quay về P700 thành vòng khép kín và chỉ tạo ra ATP. Người ta cho rằng vai trò của dòng electron vòng là để bổ sung lượng ATP sử dụng cho quá trình tổng hợp chất ở pha tối trong trường hợp sự tổng hợp chất đòi hỏi cung cấp nhiều lượng ATP hơn bình thường. Vì lẽ rằng, lượng ATP và NADPH của dòng electron không vòng cung cấp cho pha tối là như nhau, vì vậy trong trường hợp nếu sự tổng hợp glucozơ trong pha tối yêu cầu cung cấp nhiều ATP hơn thì lượng ATP thiếu sẽ được cung cấp thêm từ dòng electron vòng. Sự hoạt động phối hợp giữa hai dòng chuyền electron có tác dụng điều chỉnh lượng cung cấp ATP cần cho pha tối của quang hợp.

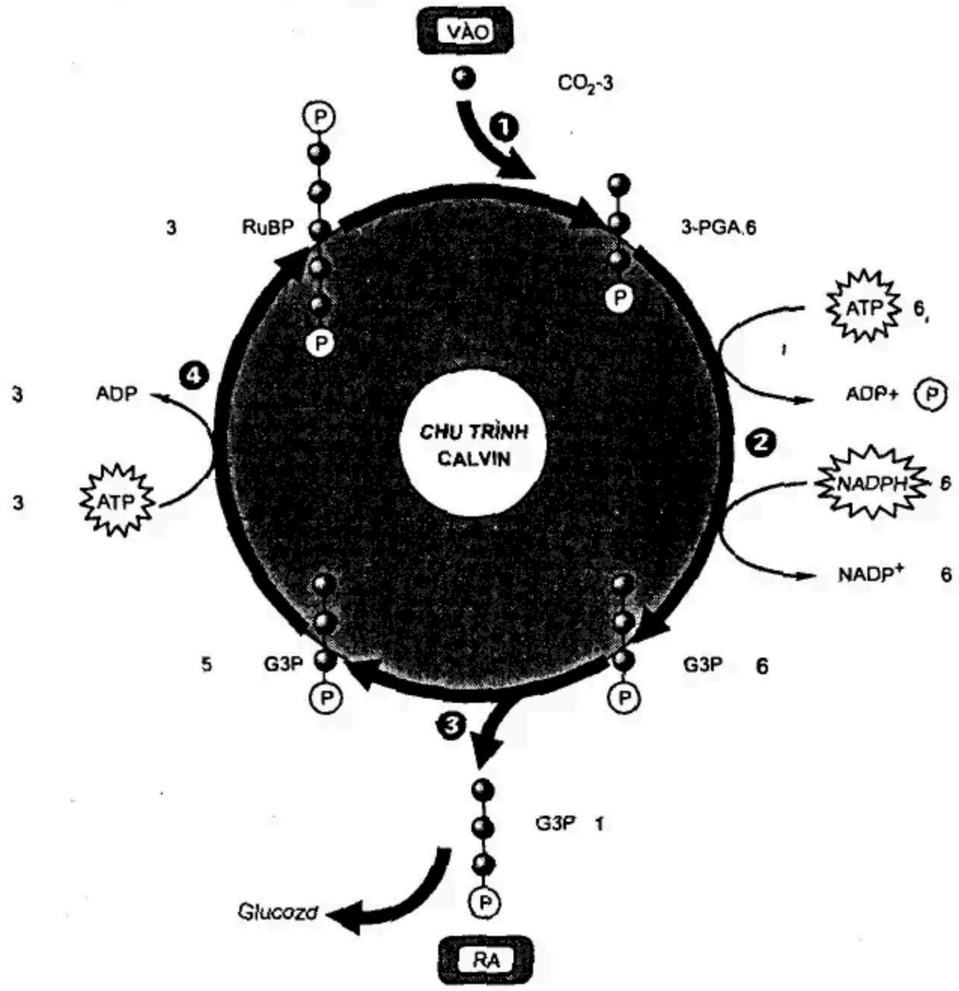
Cơ chế chuyển hóa năng lượng từ dòng năng lượng electron để tổng hợp ATP trong lục lạp cũng theo cơ chế hóa thẩm thấu giống với hô hấp trong ty thể. Năng lượng từ dòng electron "rơi" là động lực tạo nên gradien H^+ (tức là điện thế màng) giữa 2 phía đối diện của màng tilacoit (giữa xoang màng tilacoit và xoang chất nền lục lạp). Dòng

proton H^+ sẽ đi xuyên qua phức hệ ATP-sintetaza có trong màng tilacoit, kích động chúng tổng hợp ATP từ ADP và P (hình 7.6). Phần mũ của ATP-sintetaza nằm thòi ra phía chất nền cho nên ATP được tổng hợp sẽ đi vào chất nền để sử dụng cho sự tổng hợp glucozơ xảy ra trong chất nền lục lạp.

3.3. Pha tối

Pha tối xảy ra trong chất nền của lục lạp và không cần đến ánh sáng nhưng lại cần đến CO_2 và hệ enzim có trong chất nền của lục lạp. Tế bào đã sử dụng năng lượng do pha sáng cung cấp (ATP và NADPH) để tổng hợp nên glucozơ thông qua một chu trình được gọi là chu trình Calvin. Nếu thiếu ATP và NADPH sự tổng hợp glucozơ bị ngừng trệ, vì vậy sự tổng hợp glucozơ không cần đến ánh sáng nhưng luôn luôn phụ thuộc vào pha sáng.

Hình 7.7 chỉ ra các chất tham gia và sản phẩm tạo thành trong pha tối của quá trình quang hợp



Hình 7.7. *Sơ đồ tóm tắt chu trình Calvin*

Chu trình Calvin là chu trình đồng hóa cacbon. Cacbon từ phân tử CO_2 cung cấp và sản phẩm được tạo thành ở dạng đường 3 cacbon là glixeraldehit-3-photphat (G3P), gồm 3 giai đoạn: 1) Cố định cacbon: Chu trình sử dụng lần lượt mỗi lần một phân tử CO_2 liên kết với đường 5 cacbon là ribulo-2-photphat (RuBP) nhờ enzim RuBP cacboxilaza (còn gọi là enzim Rubisco, là enzim có nhiều nhất trong cây xanh và cũng là loại enzim có nhiều nhất trong thế giới sống). Sản phẩm của phản ứng là hợp chất 6 cacbon không bền vững nên nhanh chóng bị phân giải tạo nên hai phân tử 3-photphatglixerat (3-PGA). 2) Khử cacbon: Mỗi phân tử 3-photphatglixerat thu nhận nhóm photphat từ ATP để tạo thành 1, 3-photphatglixerat. Tiếp theo 1, 3-photphatglixerat bị khử bởi một đôi electron từ NADPH và tạo thành đường 3 cacbon là glixeraldehit-3-photphat (G3P). Người ta đã tính toán được rằng, phải sử dụng 3 phân tử CO_2 để tạo nên 6 phân tử G3P, trong đó một phân tử G3P được tế bào sử dụng để tổng hợp nên glucozơ hoặc các hợp chất hữu cơ khác. Còn 5 phân tử G3P còn lại sẽ được tiếp tục đưa vào chu trình để chuyển hóa thành 3 phân tử RuBP. 3) Tái sinh RuBP: 5 phân tử G3P sẽ tiếp tục đi vào chu trình và sử dụng năng lượng từ ATP để tái sinh chất đường 3 cacbon là ribulo-2-photphat (RuBP) là chất nhận CO_2. Như vậy chu trình Calvin sẽ được tiếp diễn.

Để tổng hợp được một phân tử G3P và tái sinh RuBP, chu trình Calvin trong chất nền lục lạp tiêu tốn 9 phân tử ATP và 6 phân tử NADPH cung cấp từ pha sáng do sự phối hợp của hai hệ quang hợp II và I, phối hợp giữa dòng chuyền electron không vòng và dòng chuyền electron vòng mà ta đã xem xét ở phần trên.

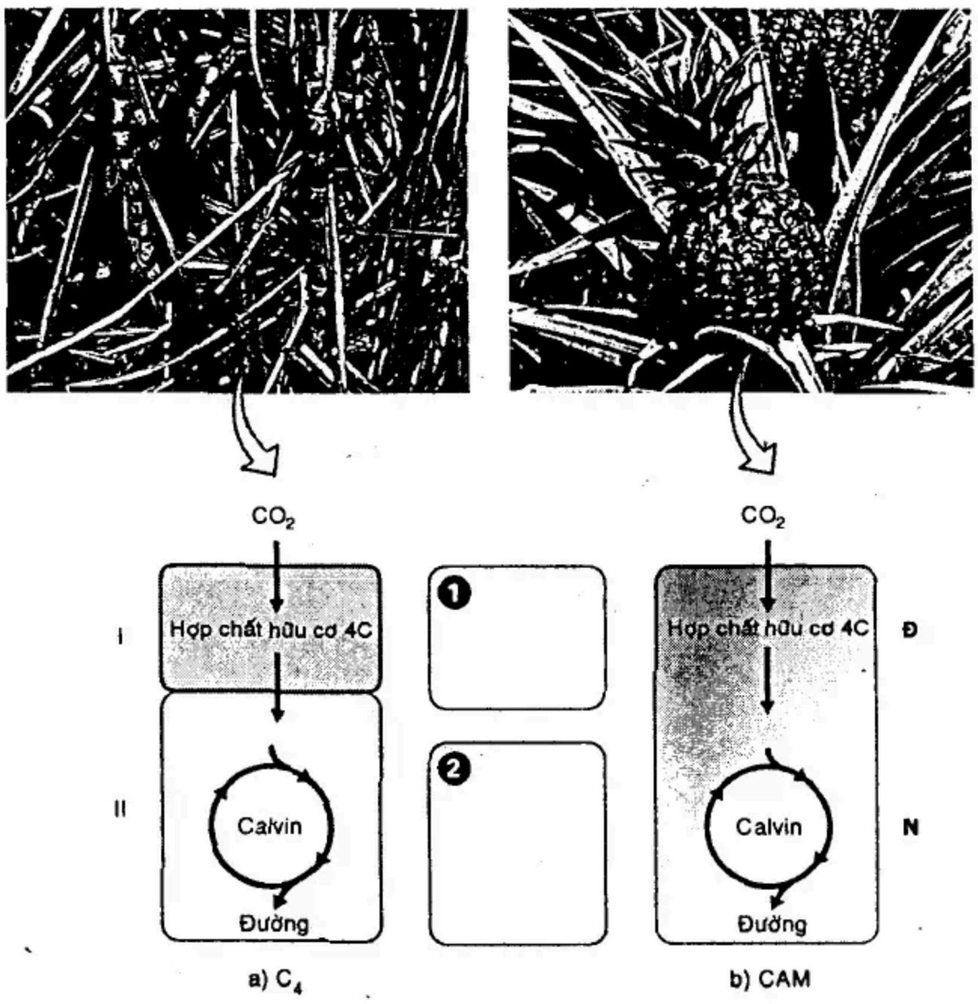
Ngoài con đường tổng hợp chất hữu cơ như đã nêu trên, ở các thực vật vùng sa mạc hay vùng nhiệt đới còn có những con đường khác. Diễn biến của các con đường tổng hợp các chất hữu cơ trong pha tối phụ thuộc vào nhiều điều kiện môi trường.

3.4. Thực vật C3 và thực vật C4

Đối với đa số thực vật có cơ chế tổng hợp chất đường G3P (là nguyên liệu để tổng hợp glucozơ và các chất hữu cơ khác nhau) như ta đã xem xét ở phần trên. Chất G3P là chất đường 3 cacbon cho nên con đường tổng hợp chất hữu cơ thông qua chất G3P được gọi là con đường C3 và thực vật đó được gọi là thực vật C3.

Đối với một số thực vật khác được gọi là thực vật C4 được đặc trưng ở chỗ: trong chu trình Calvin, sản phẩm cuối cùng được tạo ra

không phải là chất 3 cacbon như G3P mà là chất 4 cacbon. Có khoảng vài nghìn loài thực vật thuộc 19 họ, trong đó có nhiều cây trồng như cây mía, cây ngũ cốc thuộc họ hòa thảo là thuộc thực vật C4. Thực vật C4 được đặc trưng bởi cấu trúc của bộ máy quang hợp. Thực vật C4 có 2 loại tế bào quang hợp riêng biệt: tế bào trung diệp của lá (như ở thực vật C3) và các tế bào bao bó mạch của gân lá. Quá trình quang hợp (pha tối) được thực hiện tách biệt theo không gian: sự cố định CO_2 từ không khí được thực hiện ở tế bào trung diệp để tạo nên hợp chất 4 cacbon là malat. Malat được xem như nguồn dự trữ cacbon tạm thời để cung cấp cho chu trình Calvin xảy ra ở tế bào bao bó mạch (hình 7.8a). Bằng cách phân vùng để dự trữ nguồn CO_2 như vậy, các thực vật C4 thích nghi được với điều kiện nhiệt đới nóng do cường độ chiếu sáng quá mạnh làm cho khí khổng phải đóng kín để chống mất nước cho cây (vì vậy gây khó khăn cho sự sử dụng CO_2 của không khí).

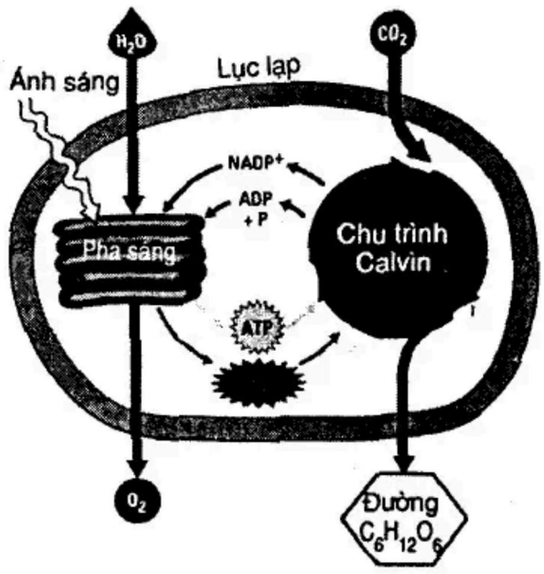


Hình 7.8. *Quang hợp ở thực vật C4, cây mía (a) và ở thực vật CAM, cây dứa (b)*
I. Tế bào trung diệp; II. Tế bào bó mạch; Đ: Ban đêm; N: Ban ngày;
1. CO_2 cung cấp ban đầu; 2. CO_2 do hợp chất hữu cơ 4C cung cấp.

3.5. Thực vật CAM

Loại thích nghi quang hợp thứ hai với điều kiện khô nóng được quan sát thấy ở thực vật CAM (CAM là viết tắt của Crassulacean Acid Metabolism – kiểu chuyển hóa của thực vật họ thuốc bỏng - *Crassulaceae* là loài cây được nghiên cứu đầu tiên). Thuộc thực vật C4 ngoài cây thuộc họ thuốc bỏng còn có các cây sống ở sa mạc như xương rồng, dứa... Ở đây sự thích nghi của quang hợp được thực hiện trong tế bào trung diệp nhưng theo sự phân chia về thời gian. Ban ngày để chống mất nước khí khổng đóng và ban đêm khí khổng mở. Ban đêm khi khí khổng mở, lá cây tranh thủ hấp thu CO_2 và biến đổi thành chất hữu cơ 4 cacbon tích lũy trong không bào. Về ban ngày khi khí khổng đóng, khi phản ứng sáng cung cấp ATP và NADPH, chu trình Calvin sẽ xảy ra với nguồn CO_2 cung cấp từ chất hữu cơ dự trữ (hình 7.8b).

Sơ đồ quang hợp được tóm tắt ở hình 7.9.



***Hình 7.9.** Sơ đồ tóm tắt các giai đoạn của quang hợp*

IV- TIẾN HÓA CỦA QUANG HỢP

Quang hợp xuất hiện rất sớm trong quá trình tiến hóa của cơ thể sống. Vi khuẩn quang hợp xuất hiện đầu tiên cách đây khoảng 3,5 tỷ năm chỉ sau khi sự sống bắt đầu vài trăm triệu năm. Dạng quang hợp đầu tiên là dạng quang dưỡng giống với quang dưỡng của vi khuẩn tía gram âm (*Rhodopseudomonas viridis*) hay vi khuẩn cổ ưa

muối (*Halobacteria halobium*) hiện nay. Chúng không có lục lạp. Hệ sắc tố của chúng là sắc tố bacteriorodopxin liên kết với retinol, có vai trò hấp thụ ánh sáng để thực hiện sự vận chuyển proton H^+. Hệ sắc tố cũng như các enzim, protein, cofactor tạo nên *trung tâm phản ứng* chịu trách nhiệm quang hợp đều chứa trong màng sinh chất. Chúng hoạt động tương tự như hệ quang hợp II của tảo và thực vật. Hệ sắc tố hấp thụ photon ánh sáng, dòng chuyền electron tạo nên gradien H^+ kích hoạt ATP-sintetaza tổng hợp ATP. Đối với nhiều loại vi khuẩn, ví dụ, vi khuẩn lục sunphua và vi khuẩn helio (*Heliobacteria*), trung tâm phản ứng chứa sắc tố pheophitin và các chất chuyền electron và dòng chuyền electron hoạt động tổng hợp ATP giống như hệ quang hợp I của tảo và thực vật.

Đối với vi khuẩn lam (*Cyanobacteria*), tuy chúng chưa có lục lạp như tảo và thực vật, nhưng chúng có cả hai hệ quang hợp II và I với hệ sắc tố là clorophyl a và b, hoạt động giống như ở tảo và thực vật. Điều khác biệt là hệ sắc tố II và I không chứa trong lục lạp như ở tảo và thực vật mà được chứa trong màng tilacoit nằm rải rác trong tế bào chất. Màng tilacoit của chúng là do sự gấp nếp của một phần màng sinh chất được tách ra đi vào tế bào chất. Nên nhớ là lục lạp của cơ thể nhân chuẩn (tảo, thực vật) có nguồn gốc cộng sinh của một dạng vi khuẩn lam. Dạng quang hợp của vi khuẩn lam là dạng quang tự dưỡng xuất hiện đầu tiên, sử dụng sắc tố clorophyl như chất hấp thụ photon, sử dụng H_2O như là nguồn H^+ để chuyển hóa thành năng lượng ATP và tổng hợp chất hữu cơ từ nguồn cacbon là CO_2 sản sinh ra khí oxy. Vi khuẩn lam xuất hiện cách đây khoảng 2,5 tỷ năm và hoạt động của vi khuẩn lam đã tạo nên bầu khí quyển tích lũy nhiều oxy, tạo điều kiện cho sự xuất hiện các cơ thể hô hấp hiếu khí.

V- CÁC NHÂN TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUANG HỢP

5.1. Ánh sáng

Cây xanh quang hợp mạnh nhất vào buổi sáng sớm và chiều, là thời gian giàu bức xạ đỏ.

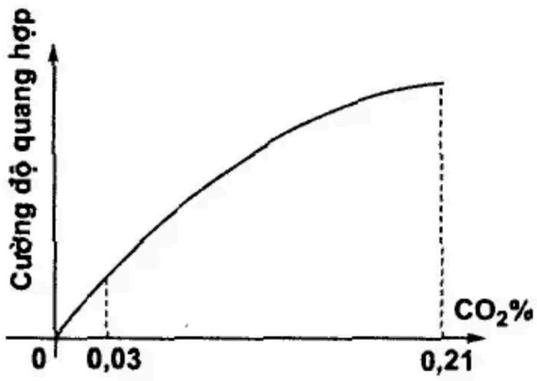
5.2. Hàm lượng CO_2 trong không khí

Đồ thị ở hình 7.10 chỉ ra hàm lượng của CO_2 trong không khí gây ảnh hưởng như thế nào đối với cường độ quang hợp.

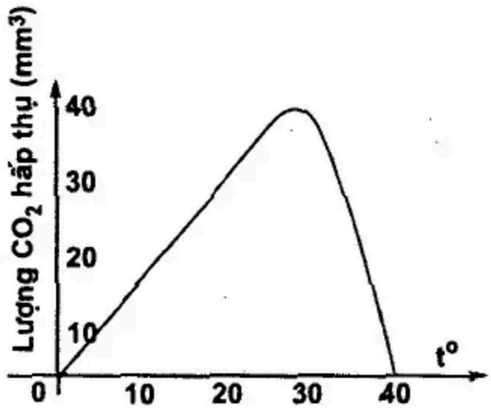
5.3. Nhiệt độ

Nhiệt độ không khí cũng là nhân tố gây ảnh hưởng đến cường độ quang hợp.

Đồ thị ở hình 7.11 chỉ ra ảnh hưởng của nhiệt độ đến quang hợp.



Hình 7.10. Biểu đồ của sự biến đổi cường độ quang hợp theo tỷ lệ% CO_2 không khí



Hình 7.11. Biểu đồ về quan hệ giữa nhiệt độ và quang hợp

VI- VAI TRÒ CỦA QUANG HỢP ĐỐI VỚI HỆ SINH THÁI VÀ CON NGƯỜI

Ba vai trò chủ yếu của quang hợp đối với hệ sinh thái và đời sống con người là:

– Quang hợp tạo nên chất hữu cơ cung cấp nguồn thức ăn cho toàn bộ thế giới sinh vật và con người.

– Quang hợp tạo cân bằng hệ sinh thái và toàn bộ sinh quyển, đặc biệt là cân bằng hàm lượng CO_2 và O_2 khí quyển.

– Quang hợp là phương thức duy nhất chuyển hoá năng lượng ánh sáng mặt trời (quang năng) thành hoá năng tích trong chất hữu cơ mà thế giới sống có thể sử dụng được.

PHẦN IV

CHU KỲ TẾ BÀO VÀ SỰ SINH SẢN CỦA TẾ BÀO

Chương VIII

CHU KỲ TẾ BÀO

I- CÁC THỜI KỲ CỦA CHU KỲ TẾ BÀO

1.1. Khái niệm về chu kỳ tế bào

Một trong những đặc tính cơ bản của cơ thể sống là đặc tính sinh sản, tức là khả năng tự sinh ra cơ thể giống mình. Đặc tính sinh sản, của cơ thể có cơ sở ở sự phân bào. Từ năm 1855, R. Virchow đã khẳng định "cũng giống như động vật được sinh ra chỉ từ động vật, thực vật chỉ sinh ra thực vật, tế bào chỉ được sinh ra từ tế bào có trước" (*Omnis cellula e cellula*). Năm 1882, W. Flemming phát hiện ra hiện tượng phân bào có tơ (mitosis) sau khi tế bào đã trải qua một thời gian sinh trưởng. Về sau các nhà tế bào học phát hiện ra phân bào được xen kẽ với thời gian sinh trưởng theo từng chu kỳ.

Chu kỳ tế bào (cell cycle) là thời gian diễn ra kể từ thời điểm tế bào được hình thành nhờ phân bào của tế bào mẹ và kết thúc bởi sự phân bào để hình thành tế bào mới. Như vậy thời kỳ *phân bào* được xen kẽ bởi thời kỳ giữa các lần phân bào được gọi là *gian kỳ*.

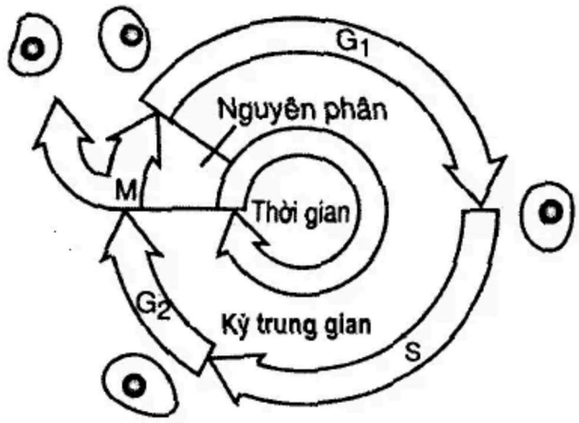
1.2. Các thời kỳ của chu kỳ tế bào (hình 8.1)

Người ta chia chu kỳ tế bào ra hai thời kỳ chính:

- Thời kỳ giữa hai lần phân chia được gọi là gian kỳ (hay kỳ trung gian - interphase) được ký hiệu là I, là thời gian tế bào trao đổi chất, sinh trưởng và chuẩn bị cho phân bào.

- Thời gian tiếp theo là kỳ phân bào (mitosis) được ký hiệu là M, là thời kỳ tế bào mẹ phân đôi cho ra hai tế bào con.

Trong cơ thể đa bào, các tế bào sinh dưỡng (tế bào soma) được biệt hoá khác nhau để thực hiện chức năng khác nhau, cho nên thời gian kéo dài của chu kỳ sống của chúng có nhiều thay đổi không giống nhau, đặc biệt là gian kỳ. Ví dụ, tế bào ruột phân bào hai lần qua một ngày, tế bào gan phân bào hai lần qua một năm, còn tế bào nơron ở cơ thể trưởng thành hầu như không phân bào mà gian kỳ kéo dài cho đến khi tế bào chết hoặc cơ thể chết. Trung bình chu kỳ sống của đa số tế bào kéo dài từ 8 giờ đến 100 ngày, trong đó thời gian của gian kỳ là thay đổi còn thời gian của phân bào là ổn định, chỉ chiếm khoảng 1 giờ.



Hình 8.1. Chu kỳ tế bào

a) Gian kỳ

Trong gian kỳ tế bào thực hiện các chức năng trao đổi chất, các hoạt động sống khác nhau, tổng hợp ARN, ADN, các protein, các enzim v.v... và chuẩn bị cho phân bào. Tuỳ theo đặc điểm chức năng, người ta chia gian kỳ ra 3 giai đoạn hay là pha liên tiếp nhau: giai đoạn G1 (gap 1), giai đoạn S (synthesis) và giai đoạn G2 (gap 2) (hình 8.1) Thời gian kéo dài của gian kỳ tuỳ thuộc vào thời gian của 3 pha G1 + S + G2, đặc biệt tuỳ thuộc vào G1 vì ở các loại tế bào khác nhau thì thời gian G1 là rất khác nhau, còn giai đoạn S và G2 tương đối ổn định.

– Pha G1:

Pha G1 được tiếp ngay sau phân bào khi tế bào con được hình thành.

+ Thời gian của G1:

Thời gian của G1 kéo dài từ ngay sau khi tế bào được tạo thành do phân bào, cho đến khi bắt đầu pha S là pha tổng hợp ADN. Thời gian của G1 tuỳ thuộc vào chức năng sinh lý của tế bào, ví dụ, đối với tế bào phôi thì thời gian của G1 = 30 phút - 1giờ, đối với tế bào gan động vật có vú G1 = 1 năm, còn đối với tế bào nơron G1 có thể kéo dài suốt đời sống cơ thể. Đối với tế bào ung thư, thời gian của G1 bị rút ngắn rất nhiều. Người ta còn phân biệt pha G0 là pha trong đó tế bào đi vào trạng thái biệt hoá lâu dài, hoặc vĩnh viễn, hoặc thoái hoá.

Khi kết thúc G1, tế bào có đi vào pha S và G2 để vào kỳ phân bào hay không là tuỳ thuộc vào các điều kiện môi trường. Vào cuối pha G1, có một thời điểm được gọi là điểm chốt (check point), điểm R.

Nếu tế bào vượt qua điểm R chúng tiếp tục đi vào pha S. Nhân tố điều chỉnh để vượt qua thời điểm R vào S là phức hệ protein được gọi là Cdk - cyclin gồm có cyclin D, cyclin E và enzim kinaza phụ thuộc cyclin (hình 8.2), trong đó cyclin đóng vai trò điều chỉnh, nghĩa là chỉ khi cyclin liên kết với kinaza thì enzim kinaza mới thể hiện hoạt tính phát động các phản ứng của chu kỳ tế bào. Pha G1 là pha sinh trưởng của tế bào vì trong pha này xảy ra sự tổng hợp các ARN và protein. Đối với các tế bào biệt hoá thì tế bào không vượt qua R mà đi vào quá trình biệt hoá tế bào để tạo nên các dòng tế bào sinh dưỡng (tế bào soma) khác nhau, có chức năng khác nhau.

+ Tổng hợp chất trong pha G1:

Trong pha G1, số lượng nhiễm sắc thể chứa hàm lượng ADN là ổn định (ví dụ ở người là 2n = 46 nhiễm sắc thể chứa hàm lượng ADN là 6×10^9 cặp nucleotit). Mỗi một nhiễm sắc thể chứa một phân tử ADN liên kết với histon và ở pha G1 các sợi nhiễm sắc của nhiễm sắc thể ở trạng thái hoạt động, nghĩa là tổng hợp các ARN (phiên mã) và tổng hợp protein (dịch mã). Cũng vì vậy người ta xem pha G1 là pha sinh trưởng của tế bào và thực hiện hoạt động sinh lý khác nhau. Khi phiên mã, thì các gen chứa trong vùng chất nhiễm sắc thực (euchromatine) (có chứa các codon gồm bộ ba deoxiribonucleotit) sẽ được phiên mã để tổng hợp nên phân tử mARN (mang các codon gồm bộ ba ribonucleotit) và như vậy mã của một protein nào đó (trình tự các codon) trong ADN đã được "phiên" sang mARN. Phân tử mARN sẽ đi ra tế bào chất đến riboxom, ở đây các tARN mang các axit amin lắp ráp thành chuỗi polipeptit (protein) có trình tự axit amin đúng theo trình tự các codon của mARN. Protein được hình thành và sẽ được tế bào chuyên chở đến nơi tế bào cần hoặc chế tiết ra ngoài.

Các tế bào phôi sớm thường có chu kỳ ngắn, chỉ khoảng 30 phút đến 1 giờ bởi vì ở chúng không có pha G1. Các nhân tố của G1 cần thiết cho sự tái bản ADN ở pha S đã được chuẩn bị trước và có sẵn trong tế bào chất của tế bào trứng.

Trong quá trình phát triển phôi thai, ở pha G1, các gen trong hệ gen hoạt hóa khác nhau và sẽ tổng hợp nên các protein đặc thù, và từ đó tạo nên các dòng tế bào soma biệt hóa trong các mô và cơ quan

khác nhau của cơ thể. Trong cơ thể trưởng thành, trong các mô vẫn tồn tại các *tế bào gốc* (stem cells) là những tế bào vẫn giữ khả năng sinh trưởng, phân bào và sản sinh ra các tế bào biệt hóa của mô. Ví dụ, trong tủy xương có dòng tế bào gốc máu có tiềm năng phân bào và cho ra các tế bào máu như hồng cầu, bạch cầu các loại.

– Pha S:

Pha S là pha tiếp theo pha G1 nếu tế bào vượt qua được điểm hạn định R. Trong pha G1, tế bào đã chuẩn bị điều kiện cho pha S: vào cuối pha G1 tế bào tổng hợp một loại protein đặc trưng là cyclin A và được tích luỹ trong nhân tế bào. Protein cyclin A cùng với kinaza sẽ xúc tiến sự tái bản ADN (hình 8.1) Được gọi là pha S vì trong pha này chủ yếu xảy ra sự tổng hợp ADN (tái bản ADN) và nhân đôi nhiễm sắc thể.

Protein cyclin A (nhân tố hoạt hoá tổng hợp ADN) tác động cho tới cuối pha S thì biến mất.

Thời gian kéo dài của pha S tương đối cố định (ví dụ, đối với động vật có vú kéo dài từ 6 đến 8 giờ). Sự tổng hợp ADN mới có cấu trúc và đặc tính giống với ADN cũ nên được gọi là sự tái bản ADN. Sau pha S, hàm lượng ADN và số lượng nhiễm sắc thể đã được nhân đôi, ví dụ, đối với tế bào người sẽ có 46 x 2 nhiễm sắc thể chứa hàm lượng ADN là 12×10^9 cặp nucleotit.

– Pha G2:

Tiếp theo pha S là pha G2, thời gian của G2 ngắn từ 4-5 giờ (đối với động vật có vú). Trong pha G2, các ARN và protein được tổng hợp chuẩn bị cho phân bào. Cuối pha G2, một protein được tổng hợp là cyclin B và được tích luỹ trong nhân cho đến tiền kỳ phân bào. Cyclin B hoạt hoá enzim kinaza và đóng vai trò quan trọng trong việc thực hiện quá trình phân bào như sự tạo thành các vi ống tubulin để tạo thành thoi phân bào. Chất colchisin có tác dụng ức chế sự tạo các vi ống gây ức chế phân bào. Người ta thường sử dụng các chất vinblastin và vincristin chiết xuất từ cây dừa cạn làm thuốc chống ung thư vì chúng cũng có tác động ức chế sự tạo thành vi ống ở G2, do đó không tạo thành thoi phân bào ở M, dẫn đến ức chế sự phân bào của các tế bào ung thư (hình 8.2).

b) Phân bào

Tiếp theo pha G2 là pha M, là thời kỳ tế bào mẹ phân chia thành

2 tế bào con. Sự phân bào là phương thức sinh sản của tế bào, đồng thời là phương thức qua đó tế bào mẹ truyền thông tin di truyền chứa trong ADN (đã được nhân đôi qua pha S) cho hai tế bào con. Sự phân bào cùng với sự tổng hợp các chất nội bào và gian bào là cơ sở của sự tăng trưởng của các mô, các cơ quan và cơ thể đa bào.

II- SỰ ĐIỀU CHỈNH CHU KỲ TẾ BÀO

Chu kỳ tế bào gồm nhiều giai đoạn diễn ra kế tiếp nhau theo một lịch trình thời gian xác định ở các loại tế bào khác nhau cũng như các cơ thể khác nhau là nhờ có sự điều chỉnh hoạt động của toàn bộ chu kỳ. Nghiên cứu cơ chế điều chỉnh chu kỳ tế bào không chỉ có tầm quan trọng trong nghiên cứu sinh học sinh sản mà còn có tầm quan trọng trong nghiên cứu bệnh học, đặc biệt là bệnh học ung thư. Sự điều chỉnh chu kỳ tế bào về nguyên lý chung diễn ra theo những cơ chế giống nhau ở cơ thể đơn bào cũng như cơ thể đa bào. Những năm gần đây, người ta đã phát hiện được cơ sở phân tử của cơ chế điều chỉnh chu kỳ tế bào.

2.1. Một hệ thống trung tâm phát động các quá trình cần thiết của chu kỳ

Để hiểu được cơ chế điều chỉnh của chu kỳ tế bào, ta hãy xem xét tế bào như là một chiếc máy giặt quần áo. Chức năng giặt quần áo của máy gồm nhiều công đoạn nối tiếp nhau: lấy nước cùng bột giặt, vò quần áo, xả nước bẩn, vắt khô. Mỗi công đoạn diễn ra trong một thời gian nhất định và nối tiếp nhau. Cũng giống như vậy, chu kỳ tế bào cũng gồm nhiều giai đoạn nối tiếp nhau như: sinh trưởng, nhân đôi ADN, phân bào. Mỗi giai đoạn diễn ra trong một thời gian nhất định và nối tiếp nhau. Giai đoạn trước phải được hoàn thành mới có thể tiếp theo giai đoạn sau và điều kiện của giai đoạn sau cũng đã được chuẩn bị trong giai đoạn trước. Trong cả hai trường hợp: chu kỳ tế bào và máy giặt đều có nhân tố điều chỉnh trung tâm khiến cho các quá trình xảy ra liên tiếp nhau theo trình tự, theo thời gian, trong đó nhân tố điều chỉnh hoạt động như một chiếc đồng hồ quy định nên thời gian hoạt động mỗi quá trình (giai đoạn) thông qua các điểm chốt (check points). Điểm chốt thể hiện cơ chế điều chỉnh theo mối liên hệ ngược, nghĩa là sự hoàn thành quá trình trước là điều kiện phát động cho quá trình sau. Tuy nhiên, cơ chế điều chỉnh của chu kỳ

tế bào phức tạp hơn nhiều bởi vì các nhân tố điều chỉnh như chúng ta đã biết là các phức hợp sinh hóa phức tạp hoạt động trong mối tương quan với nhau, và với môi trường nội bào và ngoại bào.

Hệ thống điều chỉnh chu kỳ tế bào gồm các phức hệ sinh hóa tác động theo chu kỳ và đó là các phức hệ protein hoạt động tương tác theo kiểu kích thích và ức chế, phối hợp với các quá trình tiền thân cần thiết cho sự nhân đôi ADN và phân ly của ADN. Trong chu kỳ, hệ thống điều chỉnh đến lượt mình lại được kiểm tra bởi các "phanh" có tác động phanh hãm chu kỳ ở các điểm chốt đặc biệt.

Như vậy khi các quá trình tiền thân đã hoàn thành là điều kiện cần cho sự khởi động quá trình tiếp theo của chu kỳ, nhưng cũng có thể bị ách lại ở các điểm chốt. Hệ thống "phanh" rất quan trọng, bởi vì nó cho phép kiểm tra hệ thống điều chỉnh của chu kỳ bởi các tín hiệu đến từ môi trường.

Các tín hiệu của môi trường tác động lên hệ thống điều chỉnh bởi hai điểm chốt chủ yếu: một ở giai đoạn G1 ngay trước khi vào giai đoạn S, và một điểm chốt ở G2 là điểm mà ở đó hệ thống điều chỉnh thực hiện quá trình có tác động khởi động sự phân bào ở M. Đối với các tế bào không đi vào phân bào thì chu kỳ bị phanh ngay ở điểm chốt ở G1.

Đối với tế bào nấm men, điểm chốt ở G1 thường được gọi là điểm xuất phát-điểm S (start point), còn đối với tế bào động vật điểm chốt này được gọi là điểm hạn định-điểm R (restriction point).

2.2. Hệ thống điều chỉnh chu kỳ - phức hệ các protein-kinaza

Nhiều nghiên cứu trên các đối tượng khác nhau như nấm men, tế bào phôi sớm, tế bào động vật có vú trong nuôi cấy *invitro* đều chứng minh rằng, hệ thống điều chỉnh chu kỳ tế bào là gồm hai họ protein chủ yếu. Họ thứ nhất là các *kinaza phụ thuộc cyclin-Cdk* (cyclin dependant kinase) có tác dụng phát động các quá trình tiền thân bằng cách gây photphorin hóa nhiều protein đặc trưng tại gốc serin và threonin. Họ protein thứ hai là các protein đặc biệt được gọi là *cyclin* (được gọi như thế vì chúng xuất hiện theo chu kỳ tế bào-cell cycle), các cyclin đóng vai trò kiểm tra hoạt tính photphorin hóa của Cdk đối với các protein đích.

Khi cyclin liên kết với Cdk thành một phức hệ thì Cdk ở trạng thái hoạt tính và khi cyclin tách khỏi Cdk thì Cdk không có hoạt

tính. Như vậy, bằng cơ chế tổng hợp và phân giới protein cyclin cùng với cơ chế tạo phức hệ và giải thể phức hệ cyclin - Cdk tế bào điều chỉnh chu kỳ sống của mình. Có thể có nhiều loại cyclin khác nhau nhưng người ta xếp chúng vào hai loại chủ yếu là các cyclin mitosis là các cyclin liên kết với Cdk trong giai đoạn G2 và cần thiết để tế bào đi vào mitosis, và loại cyclin G1 là các cyclin liên kết với Cdk trong giai đoạn G1 và cần thiết cho tế và đi vào giai đoạn S.

Người ta cho rằng, đối với nấm men chỉ có một loại Cdk hoạt động ở cả 2 điểm chốt G1 và G2, còn đối với động vật có vú có thể có nhiều loại Cdk khác nhau, mỗi loại tác động cho một điểm chốt.

Sự hoạt hoá và không hoạt hoá của Cdk trong mỗi giai đoạn của chu kỳ thể hiện sự chuyển giai đoạn của chu kỳ và cũng là thể hiện hiệu quả của hệ điều chỉnh lên chu kỳ bằng cách phát động các phản ứng dẫn tới sự chuyển sang giai đoạn kế tiếp sau đó của chu kỳ. Sự hình thành phức hệ cyclin-Cdk ở G1 cho phép tế bào chuyển từ G1 sang S và sự hình thành phức hệ cyclin-Cdk ở G2 cho phép tế bào chuyển từ G2 sang giai đoạn M. Để hiểu rõ hơn cơ chế điều chỉnh trên đây người ta đã phân tích và lý giải bằng các nghiên cứu trên nhiều đối tượng khác nhau.

2.3. Chu kỳ của tế bào phôi sớm và vai trò của MPF

Đối với các tế bào có chu kỳ chuẩn thì tế bào phải trải qua G1 là giai đoạn sinh trưởng đủ dài mới chuyển sang giai đoạn S để nhân đôi hàm lượng ADN, và chỉ sau khi quá trình nhân đôi ADN hoàn thành thì tế bào mới bước vào giai đoạn G2 và M để phân bào. Như vậy chu kỳ chuẩn phải kéo dài trong một thời gian đủ dài để hoàn thành các giai đoạn cần thiết trước khi phân bào và hệ thống điều chỉnh của chu kỳ hoạt động thích ứng với thời gian đó.

Các tế bào của phôi ở giai đoạn phát triển sớm của nhiều động vật có chu kỳ bất thường: chúng phân bào rất nhanh và bỏ qua giai đoạn sinh trưởng G1 và như vậy đòi hỏi sự hoạt động của hệ điều chỉnh phải thích ứng với trạng thái đó, nghĩa là cho phép tế bào trong thời gian ngắn nhất phải hoàn thành được các quá trình tối ưu cần thiết là nhân đôi hệ gen và phân ly hệ gen về 2 tế bào con.

Các nhà nghiên cứu đã sử dụng phôi sớm của ếch Châu Phi (*Xenopus*) để xem xét hệ thống điều chỉnh như vậy.

Tế bào trứng của ếch là một tế bào rất lớn, đạt đường kính

khoảng 1mm, chứa một nhân bé, nhưng chứa tế bào chất với khối lượng 100.000 lần nhiều hơn tế bào bình thường, bởi vì trong tế bào chất của trứng chứa nhiều chất dinh dưỡng cần thiết đủ cho sự phát triển của trứng đến giai đoạn nòng nọc.

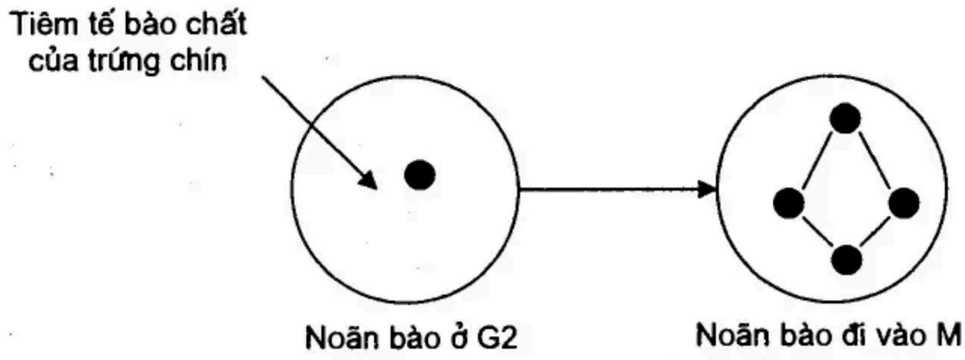
Noãn bào (ovocyte - tiền thân của tế bào trứng) sau khi đã qua meiosis I trong đó số lượng nhiễm sắc thể đã giảm thành đơn bội (n) và như chúng ta đã biết đặc trưng cho meiosis là có một lần nhân đôi ADN nhưng trải qua 2 lần meiosis (I và II). Sự sinh trưởng của noãn bào để tích lũy các chất dinh dưỡng trải qua thời gian rất dài, vì vậy tiến trình meiosis bị ách lại ở pha G2 của chu kỳ chuẩn.

Để noãn bào có thể vượt qua điểm chốt, hoàn thành chu kỳ và trở thành trứng chín, đòi hỏi phải có hoocmon tác động đến noãn bào.

Khi trứng được thụ tinh, trứng nhanh chóng phân bào nguyên nhiễm liên tục cho ra một phôi có hàng nghìn tế bào bé mà không cần tăng trưởng, và điều kiện cần độc nhất là tổng hợp và nhân đôi ADN qua một chu kỳ. Chu kỳ phân bào đầu tiên kéo dài khoảng 90 phút, nhưng 11 chu kỳ phân bào tiếp theo với khoảng cách chỉ 30 phút và trong khoảng 7 giờ đã hình thành phôi với 2^{12} (4096) tế bào con. Mỗi chu kỳ bao gồm giai đoạn M: 15 phút và gian kỳ kéo dài 15 phút đủ để nhân đôi ADN, như vậy coi như không có G1 và G2.

Nhân tố điều chỉnh có trong tế bào chất kiểm tra cửa đi vào M: Vấn đề đặt ra là tại sao các tế bào phôi sớm lại vượt qua được các điểm chốt G1 và G2 để đi vào M nhanh như vậy? Hai thí nghiệm chủ yếu cho phép người ta giả thiết là có nhân tố tồn tại trong tế bào chất của tất cả các tế bào đang ở trạng thái phân chia và nhân tố đó đã phát động cho tế bào đi vào M.

Thí nghiệm thứ nhất sử dụng các noãn bào của ếch đang bị ách lại ở G2 của meiosis I tức là không đi được vào M. Người ta tiêm tế bào chất của trứng ếch đã chín nhưng chưa thụ tinh vào trong noãn bào đang ở giai đoạn G2 của meiosis I bị ách lại ở G2, thì noãn bào này sẽ chuyển vào M để tiếp tục hoàn thành phân bào và trở thành tế bào trứng chín. Nhân tố có hoạt tính đó có trong tế bào chất được đặt tên là *nhân tố phát động trứng chín* - MPF (Maturation Promoting Factor) cũng là nhân tố phát động mitosis hoặc meiosis (Mitosis Promoting Factor - MPF), bởi vì, nhiều thí nghiệm đã chứng minh: chính MPF cũng là nhân tố phát động để tế bào vượt qua điểm chốt G2 để tiến vào M (hình 8.2).



Hình 8.2. *Thí nghiệm tiêm tế bào chất của trứng ếch đã chín có chứa MPF vào noãn bào ếch ở giai đoạn G2 của meiosis I*

Thí nghiệm thứ hai được tiến hành với các tế bào động vật có vú *in vitro*. Vì tế bào động vật có vú rất bé (từ 10-30μm), khó sử dụng phương pháp tiêm, cho nên thông thường người ta nuôi cấy *in vitro* chung nhau các tế bào ở các giai đoạn khác nhau của chu kỳ, tạo điều kiện cho chúng hòa hợp lẫn nhau (bằng phương pháp lai tế bào soma). Ví dụ, đem các tế bào đang ở giai đoạn M (giai đoạn phân bào) nuôi chung với tế bào ở giai đoạn G1, hoặc giai đoạn S, hoặc giai đoạn G2 thì các tế bào này (dù ở giai đoạn nào của G) cũng sẽ đi vào giai đoạn M, thể hiện ở chỗ nhân của chúng có xu thế cô đặc, xoắn ngắn lại giống như nhiễm sắc thể của các tế bào đang ở giai đoạn phân bào.

Như vậy, nhân tố MPF không chỉ có tác dụng phát động để vượt qua điểm chốt G2 và có thể cũng là nhân tố phát động vượt qua điểm chốt ở G1 cho phép tế bào đi vào S.

Nhiều thí nghiệm đã chứng minh rằng, đối với tế bào phôi ếch sớm, hoạt tính của MPF được tăng cao ở giai đoạn phân bào và giảm bớt ở giai đoạn gian kỳ theo chu kỳ đỉnh cao 30 phút, như vậy hoạt tính phân bào là tùy thuộc vào hoạt tính của MPF. Nhiều thí nghiệm loại bỏ nhân cũng chứng minh rằng, hoạt tính của MPF là đến từ tế bào chất và không phụ thuộc vào sự có hay không của quá trình nhân đôi ADN trong nhân. Nhưng khi quá trình tổng hợp protein ở G1 bị ức chế thì hoạt tính của MPF và cả tiến trình phân bào cũng bị ức chế, như vậy hoạt tính của MPF là có liên quan mật thiết đến sự tổng hợp protein đặc trưng trong gian kỳ. Để chứng minh, người ta thí nghiệm với phôi sớm của cầu gai có chu kỳ tế bào giống phôi sớm của ếch. Sử dụng phương pháp đánh dấu bằng phóng xạ (S^{35} methionin) để theo dõi sự tổng hợp protein qua các chu kỳ tế bào, người ta chứng minh rằng, một loại protein đặc biệt được tích lũy theo tiến trình của

chu kỳ: trong giai đoạn gian kỳ chúng được tích lũy nhiều cho tới giai đoạn phân bào ở bước chuyển trung kỳ - hậu kỳ và sau đó giảm đi đột ngột, và vì vậy người ta đặt tên cho loại protein này là *cyclin*. Như vậy tồn tại một số cyclin, khi hàm lượng của chúng đạt tới ngưỡng nào đó sẽ tác động hoạt hoá MPF và khi chúng bị phân hủy sẽ làm bất hoạt MPF và ức chế phân bào.

Tuy nhiên, hoạt tính của MPF không chỉ phụ thuộc vào cyclin mà còn phụ thuộc vào sự tác động của một số protein khác nữa, và cyclin chỉ được xem là một phần của phức hệ, đóng vai trò điều chỉnh hoạt tính của protein kinaza (Cdk) trong phức hệ MPF.

Có nhiều loại (có thể có 5 loại) cyclin tác động qua chu kỳ tế bào khi liên kết với Cdk.

Như chúng ta đã nêu ở trên, phức hệ MPF gồm 2 cấu thành là cyclin đóng vai trò điều chỉnh, cấu thành kia là Cdk (protein kinase) đóng vai trò là enzim kinaza là phần mang hoạt tính. Cdk sẽ thể hiện hoạt tính photphorin hóa các protein khác cần thiết cho chu kỳ tế bào bao gồm các protein - enzim có vai trò tái bản mã, các protein làm cô đặc nhiễm sắc thể, làm phân hủy màng nhân (tác động đến tấm lamina), tạo thoi phân bào...

Một quá trình quan trọng nhất đòi hỏi phải có đủ thời gian xảy ra trước khi mitosis là sự tái bản ADN phải được hoàn thành, như vậy phải có cơ chế kiểm tra ngược đến từ ADN đang được tái bản nhằm ngăn hệ thống kiểm tra tích cực làm cho tế bào tiến vào M, và như vậy ngăn chặn không cho tế bào rơi vào tình trạng nguy hiểm "phân bào tự diệt" (vì không đủ lượng ADN để phân cho 2 tế bào con). Thế mà ở phôi ếch sớm, trong các chu kỳ tế bào đầu tiên diễn ra trong khoảng 30 phút đầu hầu như bỏ qua G1 và G2, như vậy không có tín hiệu kiểm tra ngược. Người ta cho rằng ở đây, các điều kiện cho sự tái bản ADN đã có đầy đủ từ môi trường dinh dưỡng trong tế bào trứng, đủ để thực hiện 12 chu kỳ phân bào mà không cần chuẩn bị trước, và sau thời gian đó, cơ chế kiểm tra ngược sẽ hoạt động giống như ở chu kỳ tế bào chuẩn. Ngoài ra, còn tồn tại cơ chế kiểm tra tác động ức chế tái bản ADN xảy ra nhiều lần nếu như ADN đó đã được tái bản qua một chu kỳ trước khi vào M.

2.4. Điều chỉnh chu kỳ tế bào động vật có vú

a) Điều chỉnh chu kỳ diễn phức tạp và đa dạng

Đối với động vật có vú cũng như các cơ thể đa bào phức tạp khác

được đặc trưng bởi sự phát triển cá thể (ontogenesis) là quá trình đa giai đoạn diễn ra theo thời gian, theo đó từ hợp tử thông qua sự tăng sinh tế bào và biệt hoá tế bào sẽ hình thành các mô, các cơ quan và cơ thể toàn vẹn đặc trưng cho loài về kiểu hình và kiểu gen. Sự sinh sản và biệt hóa tế bào được kiểm soát bởi một mạng lưới tín hiệu đến từ các tế bào của mô, của các cơ quan trong cơ thể, từ môi trường và phối hợp với các tín hiệu nội bào để điều chỉnh sự tăng trưởng và phát triển theo đúng chương trình phát triển kiểu gen. Như vậy chu kỳ tế bào và cơ chế điều chỉnh chu kỳ là không như nhau đối với các tế bào biệt hoá khác nhau của cơ thể.

Các tế bào phôi sớm sinh sản rất nhanh, chu kỳ tế bào ngắn, trong lúc đó các tế bào biệt hóa của cơ thể trưởng thành rất khác nhau về thời gian kéo dài của chu kỳ, của từng giai đoạn của chu kỳ. Đối với tế bào gốc trong mô luôn được đổi mới như biểu mô ruột, da, mô tuỷ xương đỏ, chúng luôn phân bào để thay thế các tế bào bị mất đi. Đối với tế bào của các mô đã trưởng thành thì chúng thường dừng lại ở giai đoạn G1 để biệt hoá thành các tế bào đặc trưng cho mô, như mô gan, mô thận, mô cơ, mô thần kinh và người ta bảo chúng ở giai đoạn G0. Trong điều kiện nào đó, các tế bào đã biệt hoá của các mô (ví dụ tế bào gan, tế bào limpho, nguyên sợi bào...) có thể trở về G1, hoàn thành chu kỳ và đi vào sinh sản và sau đó lại đi vào biệt hóa khi ở giai đoạn G1. Ví dụ, tế bào gan ở phần gan bị cắt sẽ trở về G1 và sẽ phân bào cho ra các tế bào gan mới để tái sinh lại phần gan bị cắt. Hoặc như tế bào limpho khi có kích thích của kháng nguyên sẽ trở về G1 và sẽ phân bào, sau đó biệt hoá cho ra các tế bào có thẩm quyền miễn dịch (tế bào limpho B, tế bào limpho T).

Có loại tế bào như tế bào nơron sau khi được biệt hoá chuyển vào G0 thì chúng ở trạng thái đó để thực hiện chức năng dẫn truyền thần kinh suốt đời. Có loại tế bào như hồng cầu ở động vật có vú, sau khi được biệt hóa mất nhân chứa Hb thì chúng chỉ hoạt động một thời gian và sẽ bị chết đi.

Các nhà nghiên cứu rất khó quan sát cụ thể sự sinh trưởng và sinh sản của tế bào động vật *invivo* (trong cơ thể). Đa số các nghiên cứu về sự điều chỉnh sự sinh sản của tế bào động vật có vú và người được tiến hành với các tế bào nuôi cấy *in vitro*. Như vậy có một số khó khăn nhất định, các tế bào được tách ra từ các mô đem nuôi cấy *in*

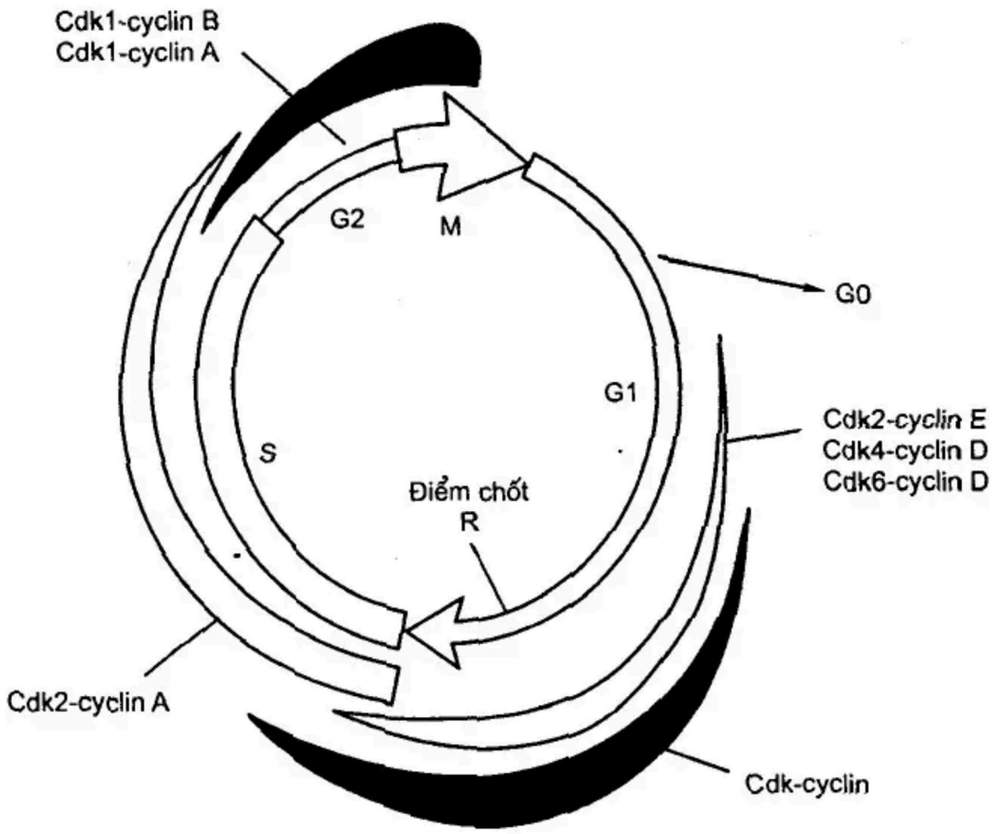
vitro, do trong điều kiện thuận lợi chúng chỉ phân bào trong một số lần nhất định (ví dụ tế bào người là khoảng 50 chu kỳ), sau đó chúng ngừng phân bào đi vào thoái hóa và chết. Điều lý thú là có một số tế bào (đặc biệt là ở Gặm nhấm) không đi vào thoái hoá mà sẽ phân bào vô hạn định trở thành các tế bào bất tử và tạo thành một dòng tế bào riêng. Đó là những tế bào đột biến, chúng cũng giống như các tế bào đột biến được tách ra từ các mô ung thư (ví dụ tế bào Hela-tế bào tách ra từ mô ung thư dạ con của chị Henrietta Lack bị ung thư dạ con chết từ năm 1950). Những dòng tế bào bất tử này được nuôi cấy *in vitro* trong tất cả các phòng thí nghiệm sinh học và y tế dược học, cung cấp cho các nhà nghiên cứu một mô hình thực nghiệm rất có ích cho sinh học, y dược nói chung và cho các nghiên cứu về chu kỳ tế bào nói riêng.

b) Nhiều loại Cdk tham gia điều chỉnh chu kỳ

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, khác với nấm men là bọn chỉ sinh sản một loại Cdk tham gia điều chỉnh chu kỳ, thì ở tế bào động vật có vú có nhiều loại Cdk tham gia điều chỉnh chu kỳ. Theo nguyên tắc hoạt động của các Cdk ở trong tế bào động vật có vú, có thể phân ra các loại Cdk1, Cdk2, Cdk3, Cdk4, Cdk5 và Cdk6 (theo thứ tự phát kiến ra chúng).

Cũng giống như nấm men *S. cerevsiae*, tế bào động vật có vú cũng sử dụng nhiều loại cyclin tham gia điều chỉnh hoạt tính Cdk, trong đó cyclin A và B có tác động trong giai đoạn S và G2, 3 loại cyclin D (D1, D2, D3) và cyclin E có tác động ở giai đoạn G1 tương tự như ở nấm men *S.cerevsiae* (hình 8.3).

Các loại cyclin khác nhau liên kết với các loại Cdk khác nhau tạo thành các phức hệ có tác dụng điều chỉnh chu kỳ ở các giai đoạn khác nhau. Ví dụ, phức hệ Cdk4-cyclin D và Cdk6-cyclin D với Cdk2-cyclin E tác động ở G1. Phức hệ Cdk2-cyclin A tác động ở giai đoạn S. Các phức hệ Cdk1-cyclinA và phức hệ Cdk1-cyclinB tác động ở giai đoạn G2 và M (hình 8.3). Khi có nhân tố sinh trưởng, các phức hệ Cdk-cyclin sẽ kích thích các tế bào đang ở giai đoạn G0 trở lại G1 và vượt qua G1 để hoàn thành chu kỳ. Trong môi trường nuôi cấy *invitro*, khi thiếu nhân tố sinh trưởng thì tế bào ở giai đoạn G0 không sản xuất Cdk và cyclin.



Hình 8.3. *Tác động của phức hợp Cdk - cyclin điều chỉnh chu kỳ tế bào động vật có vú*

c) Nhân tố sinh trưởng và vai trò của chúng

Trong nhiều năm các nhà nghiên cứu đã không thành công nuôi cấy các tế bào động vật *in vitro* mặc dù người ta tạo được môi trường nuôi cấy vô trùng có chứa đầy đủ các chất dinh dưỡng cần thiết. Chúng sẽ không sinh trưởng và không sinh sản nếu như người ta không cho thêm vào môi trường nuôi cấy "chất huyết thanh" (serum), là dịch được chiết xuất từ máu sau khi để máu ngưng kết. Các tế bào sống trong môi trường không có serum thì chúng sẽ không phân bào mà chuyển sang trạng thái G0. Người ta đã chứng minh chất cần thiết có trong serum là những protein rất đặc trưng được gọi là *nhân tố sinh trưởng* (Growth factor) và chúng tác động với một nồng độ rất nhỏ (vào khoảng 10^{-9} đến 10^{-11}M).

Một trong những nhân tố sinh trưởng đầu tiên được xác định là nhân tố sinh trưởng từ tiểu cầu, được gọi là PDGF (Platelet-Derived Growth Factor). Lúc đầu người ta sử dụng huyết tương (plasma) cho vào môi trường thì tế bào không sinh trưởng, sinh sản; nhưng nếu ta thay thế bằng serum thì chúng nhanh chóng sinh sản, bởi vì khi người ta chế tạo huyết tương bằng cách tách bỏ các tế bào máu trước

khi chúng chưa kịp ngưng kết. Khi máu ngưng kết, các tiểu cầu sẽ tiết ra nhân tố PDGF vào serum. Khi người ta tách chiết các chất PDGF trực tiếp từ tiểu cầu thì chúng cũng có tác dụng kích thích sinh sản tế bào. PDGF là một loại protein được tiết ra từ các bóng tiết có trong tiểu cầu, chúng có tác dụng kích thích sự sinh sản của tế bào để tái sinh các mô bị hỏng trong cơ thể, ví dụ, sự hàn gắn và tạo sẹo vết thương trong cơ thể.

Hiện nay người ta biết được trên 50 chất có tác động như nhân tố sinh trưởng và chúng còn được gọi là chất *mitogen* vì chúng kích thích phân bào (mitosis). Các tế bào đáp ứng lại với các nhân tố sinh trưởng thông qua các *thụ quan màng* đặc trưng (membrane receptor). Ngoài các nhân tố sinh trưởng là protein thì một số loại phân tử khác cũng có vai trò như thế, ví dụ, hoocmon steroid. Chúng tác động bằng cách liên kết với các thụ quan nội bào (trong tế bào chất hoặc trong nhân). Người ta thường chia các nhân tố sinh trưởng thành hai loại: loại đặc trưng rộng và loại đặc trưng hẹp. Loại đặc trưng rộng, ví dụ, như PDGF và EPGR (nhân tố sinh trưởng biểu bì - epidermal growth factor) là loại tác động lên nhiều dạng tế bào: thần kinh giao, tế bào biểu mô v.v... Trong lúc đó, loại đặc trưng hẹp, ví dụ như erythropoietin chỉ tác động kích thích sinh sản dòng hồng cầu.

Các nhân tố sinh trưởng tác động lên tế bào theo nhóm và rất đa dạng có thể là kích thích hoặc ức chế sự sinh sản của tế bào tuỳ thuộc theo nồng độ và tuỳ trường hợp, chúng có thể tác động lên sinh sản, biệt hóa hoặc di cư của tế bào trong cơ thể đa bào.

Đối với chu kỳ tế bào động vật có vú, điểm chốt ở G1 (được gọi là điểm R-restriction point) tương tự điểm S ở nấm men là điểm chốt quan trọng mà tế bào cần vượt qua để vào giai đoạn S và hoàn thành chu kỳ (G1 kéo dài từ 14 -16 giờ, S kéo dài từ 6-8 giờ, G2 từ 1-2 giờ và M kéo dài khoảng 1 giờ). Tất nhiên như ta đã biết, trong cơ thể các quần thể tế bào biệt hoá khác nhau có thời gian chu kỳ khác nhau. Đa số bị dừng lại ở G1 và chuyển sang trạng thái G0 tạm thời (như tế bào gan, tế bào biểu mô, biểu mô ruột, tế bào limpho v.v...), hoặc vĩnh viễn (như tế bào nơron, tế bào cơ). Người ta thường gọi G0 là giai đoạn nghỉ - giai đoạn "ngủ đông" hoặc đi vào thoái hóa của tế bào, thực chất tế bào không nghỉ hoàn toàn mà giảm cường độ hoạt động tổng hợp protein, nhiều khi chỉ còn 20% và thực hiện các chức năng của mô, cơ quan mà tế bào đó là thành viên.

Tác động của nhân tố sinh trưởng là gây cho tế bào có hai đáp ứng: đáp ứng sớm và đáp ứng chậm.

– Trong đáp ứng sớm: Nhân tố sinh trưởng có tác động kích thích sự phiên mã của nhiều gen, chủ yếu là các gen mã hóa cho các nhân tố phiên mã như c-Fos và c-Jun. Người ta chứng minh được rằng các dạng đột biến của các gen c-Fos và c-Jun do tác động của retrovirus đã dẫn đến tạo nên protein (v.Fos và v.Jun) có tác động chuyển hóa tế bào lành thành tế bào ung thư. Như vậy, các nhân tố phiên mã trên có vai trò tham gia điều chỉnh chu kỳ tế bào. Các protein được tổng hợp trong giai đoạn đáp ứng sớm (nhân tố phiên mã) là những protein không bền vững cho nên nồng độ của chúng giảm dần.

– Trong đáp ứng chậm: Các protein được tổng hợp trong giai đoạn đáp ứng sớm có tác động hoạt hóa các gen ở giai đoạn đáp ứng chậm. Một số gen này là các gen mã hóa cho các nhân tố phiên mã như E2F. Một số gen khác trong đáp ứng chậm là các gen mã hóa cho các loại cyclin D, A, E, các gen mã hóa cho các loại Cdk2, Cdk4 và Cdk6 cũng được hoạt hóa và biểu hiện. Cho đến khi nào nồng độ các protein này tích lũy đủ thì tế bào mới vượt qua điểm R để vào S và tái bản ADN.

Một số nhân tố phiên mã E2F là cần thiết cho sự phiên mã các gen trên đây, cũng như các gen mã hóa cho nhiều protein tham gia vào sự tổng hợp ADN và nhân tố E2F cũng kích thích sự phiên mã các gen mã hóa cho bản thân chúng. Khả năng kích thích phiên mã của E2F lại bị ức chế bởi protein liên kết với chúng là Rb và bởi 2 protein thân thuộc khác là p107 và p130. Protein Rb đầu tiên được xác định như là sản phẩm của gen ức chế, do đó dẫn đến sự hoạt hóa các gen cần thiết bởi E2F để đi vào giai đoạn S. Ta hãy hình dung một cơ chế phức tạp như sau: Sự photphorin hóa protein Rb gây bởi các phức hệ Cdk4-cyclin D và Cdk6-cyclin D ở giữa G1 và khi Cdk2 và cyclin E được sản xuất thì phức hệ Cdk2-cyclin E lại photphorin hóa protein Rb ở cuối G2. Đến lượt mình, khi E2F có hoạt tính sẽ kích thích sự phiên mã của mình (theo mối liên hệ ngược dương) và đồng thời dẫn đến sản sinh Cdk2-cyclin E, đến lượt mình phức hệ này sẽ tăng cường photphorin hóa Rb.

Đến thời điểm này chu kỳ diễn ra không còn phụ thuộc vào hoạt tính của Cdk4/6-cyclin D, bởi vì cùng với tiến trình, khi các nhân tố sinh trưởng không được tăng thêm thì mức cyclin D cũng giảm đi và khi đó tế bào vượt qua điểm R của G1 để đi vào S.

Như vậy sự photphorin hóa của protein Rb có tác động điều chỉnh để tế bào vượt qua điểm R để đi vào S là rõ ràng và người ta cũng thấy rằng các tế bào có mang gen Rb-/- sẽ bị giữ lại ở G1 không phụ thuộc vào nhân tố sinh trưởng.

Protein Rb được duy trì ở trạng thái photphorin hóa suốt giai đoạn S, G2 và M bởi phức hệ Cdk2/1 - cyclin. Sau khi tế bào hoàn tất phân bào và đi vào G1 sớm hoặc G0 thì mức Cdk - cyclin giảm sẽ dẫn tới làm giải photphoprotein Rb bởi các proteinphotphataza. Protein Rb lại tác động ức chế hoạt tính của E2F ở giai đoạn sớm của G1 của chu kỳ tiếp theo.

Cyclin A được tổng hợp ở cuối giai đoạn G1 và G1 sẽ chuyển sang S. Thiếu cyclin A thì tổng hợp ADN bị ức chế. Phức hệ Cdk2 - cyclin A ở động vật có vú có vai trò phát động sự tái bản ADN. Hoạt tính của Cdk2-cyclin A có thể bị ức chế bởi loại protein ức chế đặc trưng, được gọi là CKI (xem phần sau).

Ở động vật có vú, loại Cdk tác động trong G2 là Cdk1. Hoạt tính MPF của phức hệ Cdk1 - cyclin A và Cdk1 - cyclin B của động vật có vú có vai trò chuyển chu kỳ từ G2 vào M cũng được điều chỉnh bởi các protein có tác động ức chế hoạt tính của Cdk bằng cách photphorin hóa chúng và chúng sẽ được hoạt hóa bởi các photphataza bằng cách giải phóng nhóm photphat ức chế.

Đối với các tế bào có chu kỳ đổi mới thường xuyên (ví dụ phôi sớm) thì cyclin B bắt đầu được tổng hợp ở S và tăng cao hàm lượng qua G2, đạt đỉnh cao ở M và giảm mạnh sau hậu kỳ phân bào. Ở tế bào người, cyclin B đầu tiên được tích luỹ trong tế bào chất và sau đó được chuyển vào nhân ở tiền kỳ sớm ngay khi màng nhân bắt đầu phân rã. Như vậy, hoạt tính của MPF không chỉ điều chỉnh bởi sự photphorin hóa (gắn photphat) và giải photphat (tách photphat) mà còn do sự vận chuyển cyclin B vào nhân.

Cyclin A và cyclin B sẽ bị phân huỷ trong proteaxom bằng con đường ubiquytin hóa nhờ phức hệ APC (Anaphase Promoting Complex) dẫn tới giảm hoạt tính của MPF, cho phép tế bào hoàn thành mitosis để đi vào chu kỳ mới.

d) Các protein ức chế và vai trò của chúng

Ở động vật có vú cũng có các nhân tố ức chế hoạt tính của phức hệ cyclin-kinaza và chúng cũng tham gia vào điều chỉnh chu kỳ tế

bào gống như ở nấm men. Người ta đã phát hiện các protein có tác dụng ức chế hoạt tính của các cyclin-kinaza, được gọi là CKI (Cyclin-Kinase Inhibitor) và chúng có hai lớp:

– Một lớp được gọi là CIP (Cdk Inhibitor Protein), chúng liên kết và ức chế tất cả các phức hệ Cdk1-, Cdk2-, Cdk4- và Cdk6-cyclin.

– Một lớp khác được gọi là INK4 (kinase-4-inhibitor) liên kết và ức chế chỉ với phức hệ Cdk4-cyclin D và Cdk6-cyclin D. Người ta đã biết được một loại protein INK4 là p16 có tác động như một chất ức chế ung thư (tumor suppressor). Người ta cũng đã biết được ở động vật có vú có 3 lớp protein CIP được gọi là p21, p27 và p57.

Các protein ức chế như INK4 và các CIP như p21, p27 và p57 đóng vai trò ức chế hệ MPF, từ đó ức chế chu kỳ tế bào. Vai trò của CIP p21 là đáp ứng lại sự hư hỏng của ADN ở tế bào động vật có vú. Chúng cũng có vai trò ức chế sự tăng sinh tế bào trong phát triển phôi sinh. Ví dụ, trong phôi của ruồi quả có các tế bào mầm sẽ biệt hóa cho ra biểu bì, người ta tách chiết được protein Dacapo tương tự như CIP được sản sinh ra ở đầu G2 của chu kỳ phân bào lần thứ 16, chúng liên kết và ức chế phức hệ Cdk2-cyclin E làm tế bào phôi bị ách lại ở G1 của chu kỳ lần thứ 17, nhằm hạn chế sự tăng sinh của tế bào mầm biểu bì. Các thể đột biến Dacapo vì không sản sinh Dacapo (protein tương tự p21) cho nên tế bào vượt qua G1 và phân bào, tạo ra những chu kỳ bất bình thường.

Vai trò của các CIP p27 và p57 cũng đã được xác định bằng *phương pháp loại trừ gen* ở chuột. Các chuột đồng hợp p27-/ -, có phôi phát triển bình thường và sinh ra chuột con bình thường, nhưng qua một vài tuần tuổi, chuột đột biến lớn vượt lên so với chuột bình thường hơn 30%, vì người ta thấy có sự tăng sinh vượt trội của tế bào trong đa số cơ quan. Như vậy, protein CIP p27 rõ ràng là có vai trò ức chế chu kỳ tế bào và điều chỉnh sự tăng sinh tế bào trong cơ thể ở giai đoạn phôi và thai.

Protein CIP p57 được biểu hiện trong các tế bào được biệt hóa của đa số mô của cơ thể trưởng thành. Các con chuột bị loại bỏ gen không sản sinh ra p57 sẽ bị chết sau khi sinh với nhiều dị dạng do sự tăng sinh quá tải của các mô trong quá trình biệt hóa.

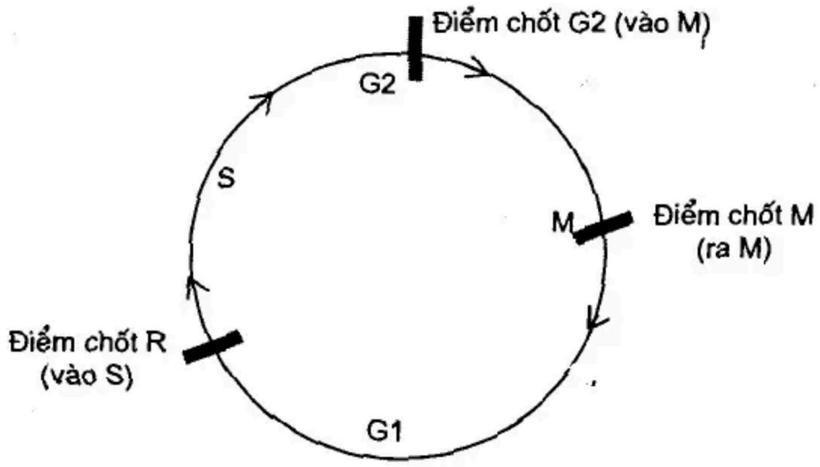
e) Các điểm chốt của chu kỳ và cơ chế tác động điều chỉnh của MPF

Như trên đã trình bày sự điều chỉnh chu kỳ tế bào theo thời gian

chuyển từ giai đoạn trước sang giai đoạn sau xảy ra ở các điểm kiểm tra (control points), hay còn gọi là điểm chốt (check points). Cơ chế kiểm tra ở điểm chốt là cơ chế kiểm tra theo mối liên hệ ngược, nghĩa là công việc ở giai đoạn sau chỉ được bắt đầu khi công việc của giai đoạn trước đó đã hoàn thành, cũng có nghĩa là công việc sẽ xảy ở giai đoạn sau đã được chuẩn bị đầy đủ, tiền đề cần thiết diễn ra ở giai đoạn trước đó. Nếu như công việc của giai đoạn trước chưa hoàn thành thì dẫn đến đình chỉ sự chuyển sang giai đoạn sau và tế bào phải kéo dài, và ở lại giai đoạn trước đó cho đến khi công việc giai đoạn được hoàn tất.

Tác động lên điểm chốt có các tín hiệu nội bào và các tín hiệu đến từ các tế bào và các mô khác trong cơ thể, cũng như tín hiệu đến từ môi trường.

Người ta thường phân biệt ba điểm chốt quan trọng: đó là điểm chốt từ G1 sang S (ở nấm men được gọi là điểm xuất phát S (start), còn ở động vật bậc cao được gọi là điểm hạn định R (restriction)), khi tế bào vượt quá được điểm chốt G1 chúng sẽ đi vào S để tổng hợp ADN. Điểm chốt thứ hai là điểm chốt G2 để kiểm tra cửa vào M của tế bào, và điểm chốt thứ 3 là điểm chốt M ở thời kỳ từ trung kỳ chuyển sang hậu kỳ phân bào, thường được gọi là điểm cửa ra của phân bào, nghĩa là khi tế bào vượt qua điểm này sẽ hoàn tất phân bào và đi vào G1 tiếp tục chu kỳ mới (hình 8.4).



***Hình 8.4.** Chu kỳ tế bào và các điểm chốt*

– Điểm chốt G1 báo hiệu rằng quá trình tăng trưởng, quá trình chuẩn bị cho sự tái bản ADN ở G1 đã được hoàn tất. Như vậy điểm

chốt G1 rất quan trọng và đối với các tế bào có chu kỳ chuẩn và liên tục thì điểm chốt G1 là điểm kiểm tra các quá trình diễn ra ở G1 mà khi hoàn tất sẽ phát động sự tái bản ADN và tiếp tục chu kỳ để vào S. Đối với các tế bào bị ách lại ở G1, các nhân tố sinh trưởng GF (Growth Factor) cũng như các chất kích thích phân bào (mitogen) thường tác động lên điểm chốt G1. Chúng phát động sự hoạt hóa của các gen mã hoá cho nhiều protein, nhiều enzim có tác động đáp ứng sớm của tế bào, trong đó có các gen mã hóa cho các nhân tố phiên mã, ví dụ, như c-Fos, c-Jun. Các protein và enzim của đáp ứng sớm sẽ kích thích hoạt hóa các gen của giai đoạn đáp ứng chậm, trong đó quan trọng nhất là các gen mã hóa cho các nhân tố phiên mã E2F.

Một số gen khác trong đáp ứng chậm là các gen mã hóa cho các dạng cyclin của G1 và một phần của S như cyclin D, E và A, các gen mã hóa cho các dạng Cdk tác động trong G1 và S như Cdk2, Cdk4 và Cdk6.

Nhân tố phiên mã E2F có tác động kích thích sự phiên mã các gen mã hóa cho các protein và enzim cần thiết cho sự tái bản ADN. Khi tế bào chưa vượt qua điểm chốt G1 thì E2F bị ức chế do liên kết với các protein ức chế, ví dụ, protein Rb. Khi protein Rb bị photphorin hóa nhờ các phức hệ kinaza (tức MPF) như Cdk4/6-cyclinD và Cdk2-cyclinE thì E2F được giải phóng, chúng sẽ tác động cùng với Cdk2-cyclinA lên hệ tái bản ADN, và như vậy G1 được chuyển vào S.

Nhiều nguyên nhân gây tác động làm tế bào bị ách lại ở G1. Ví dụ, khi phân tử ADN bị hư hỏng do các tác nhân phóng xạ hoặc hóa chất thì tế bào bị ách lại ở G1 cho tới khi các hư hỏng đó được sửa chữa. Sự ách lại ở G1 là để phòng ngừa sự tái bản các ADN bị đột biến sẽ dẫn đến đột biến trong các tế bào con.

Người ta đã phát hiện ra protein p53 (gọi như vậy vì khối lượng 53kDa) có vai trò ức chế tế bào người ở G1 khi có sự hư hỏng ADN. Khi protein không hoạt động, các tế bào với hư hỏng ADN sẽ vượt qua G1 vào S để tái bản ADN, hoàn thành chu kỳ và sẽ cho ra các tế bào con có thể chuyển dạng thành tế bào ung thư. Vì vậy người ta gọi gen mã hóa cho protein p53 là gen ức chế ung thư (tumor suppressor gene).

Trong trường hợp bình thường, protein p53 là một nhân tố phiên mã, chúng rất không bền vững, vì vậy, chúng tồn tại với lượng rất ít vừa đủ để bám vào yếu tố kiểm tra tương ứng của ADN và hoạt hóa sự phiên mã. Sự hư hỏng ADN làm bền vững hoá protein p53 và do

đó nồng độ của chúng tăng cao, chúng sẽ tích cực kích thích phiên mã. Một trong các gen được chúng kích thích phiên mã là gen mã hóa cho protein ức chế CIP p21, là protein ức chế hoạt tính của phức hệ cyclin-kinaza. CIP p21 liên kết và ức chế tất cả Cdk-cyclin ở động vật có vú và kết quả là các tế bào bị ách lại ở G1 (hoặc G0) cho tới khi ADN hư hỏng đã được sửa chữa và nồng độ p53 và CIP p21 giảm xuống.

Nếu ADN bị hư hại quá nặng thì protein p53 sẽ hoạt hóa các gen dẫn đến quá trình tự chết của tế bào (apoptosis). Quá trình apoptosis là quá trình tự chết của tế bào theo chương trình xảy ra một cách bình thường trong quá trình phát triển cá thể ở động vật đa bào. Đối với động vật có xương, số protein p53 có vai trò đáp ứng lại các hư hỏng nặng của ADN bằng cách tự chết là để ngăn ngừa sự đột biến ADN, có thể sẽ dẫn đến phát triển các tế bào ung thư. Những tế bào chứa đột biến gen p53 ở cả hai alen (p53) sẽ vượt qua G1 để vào S khi ADN bị hư hỏng nhẹ, và sẽ không tự chết đi khi ADN bị hư hỏng nặng, và như vậy khi các tế bào đó bị hư hỏng ADN, chúng vẫn vượt qua G1 vào S và ADN bị hư hỏng vẫn tái bản tạo ra đột biến và tái sắp xếp lại ADN, dẫn đến phát triển ung thư.

Hậu quả của đột biến trong gen p53 là ví dụ điển hình trong ý nghĩa của điểm chốt của chu kỳ tế bào đối với sức khoẻ của động vật và con người chúng ta.

– Điểm chốt G2 báo hiệu là các quá trình cần thiết cho sự phân bào phải được hoàn tất như sự tái bản ADN, sự đông đặc và tăng xoắn của sợi nhiễm sắc, sự tạo thành các vi ống chuẩn bị cho sự tạo thành thoi phân bào, thì tế bào mới vượt qua chốt để vào tiền kỳ của phân bào. Nếu các quá trình đó chưa được hoàn tất hoặc có xảy ra sự hư hỏng ADN thì tế bào cũng bị ách lại ở G2 và không vào được M, như vậy ngăn chặn không để xảy ra sự hư hỏng trong hệ gen của thế hệ tế bào con cháu.

Phức hệ Cdk1-cyclin A và Cdk1-cyclin B phát huy tác dụng trong G2 và cả ở trong M. Hoạt tính của chúng cũng được điều chỉnh bởi các protein ức chế và bởi sự photphorin hóa nhờ các kinaza và giải photpho nhờ các photphataza.

Phức hệ Cdk1-cyclin (A và chủ yếu là B) của G2 khi được hoạt hóa sẽ photphorin hóa các protein, đóng vai trò chủ yếu trong sự cô đặc và tăng xoắn sợi nhiễm sắc (như protein condensin), các protein

có vai trò tạo nên các vi ống của thoi phân bào (như các tubulin), các protein có vai trò trong sự phân giải và tái tạo màng nhân (như các lamin), ...

– Điểm chốt của giai đoạn M ở vào trung kỳ chuyển sang hậu kỳ: Nếu các quá trình như tan rã màng nhân, tạo thoi phân bào và các trung tiết (tức tâm động) bám gắn nhiễm sắc thể vào sợi của thoi... chưa hoàn tất thì tế bào bị ách lại ở trung kỳ. Chất colchicin có tác dụng ức chế sự trùng hợp hóa vi ống tubulin dẫn đến không tạo được thoi phân bào, do đó tế bào bị ách lại ở trung kỳ tạo nên các tế bào đa bội và hậu kỳ, mạt kỳ không xảy ra.

Phức hệ Cdk-cyclin còn có tác động hoạt hóa phức hệ APC (Anaphase Promoting Complex) là phức hệ có tác động làm cho hậu kỳ, mạt kỳ được tiếp diễn, đồng thời cũng có tác động làm phân giải cyclin để tế bào con ra khỏi M vào G1.

Khi APC được photphorin hóa nhờ phức hệ Cdk-cyclin, chúng sẽ có hoạt tính và sẽ tác động làm ubiquytin hóa để các protein ức chế hậu kỳ (ví dụ protein cohesin có vai trò gắn hai nhiễm sắc tử với nhau ở tâm động) bị phân giải bởi proteaxom, do đó các nhiễm sắc tử tách khỏi nhau và vận chuyển về hai cực nhờ sự giải trùng hợp các vi ống của sợi thoi. Khi các cyclin chưa bị phân hủy thì phức hệ Cdk-cyclin sẽ tác động để tái tạo lại màng nhân, cũng như tác động gây co thắt eo phân bào (do tác động photphorin hóa protein miozin-actin) làm cho tế bào bị phân thành hai.

Vào mạt kỳ, APC sẽ tác động làm ubiquytin hóa cyclin và cyclin bị phân giải nhờ proteaxom. Nồng độ cyclin giảm, Cdk mất hoạt tính và tế bào ra khỏi mitosis.

CÂU HỎI KIỂM TRA KIẾN THỨC (ĐÚNG, SAI)
(Chương VIII. Chu kỳ tế bào)

1. Chu kỳ tế bào gồm các pha tiếp theo nhau là G2-G1 -M và S.
2. Các pha G1-S-G2 tạo nên gian kỳ (interphase), còn M là pha tế bào phân chia.
3. Pha G1 là pha tái bản ADN và nhân đôi nhiễm sắc thể.
4. Sự sinh trưởng, sự biệt hoá tế bào diễn ra trong pha G1.

5. Pha G1 của tế bào phôi đang phát triển kéo dài hàng năm.
6. Pha G0 của tế bào nơron kéo dài theo tuổi thọ con người.
7. Có sự phiên mã và dịch mã xảy ra trong pha G1.
8. Sau pha S hàm lượng ADN và số lượng nhiễm sắc thể tăng gấp đôi.
9. Các enzim ADN polimeraza hoạt động trong pha G2.
10. Các vi ống tubulin được tạo thành trong G2.
11. Chất cochicin kích thích tạo thành vi ống, do đó kích thích sự phân chia tế bào.
12. Pha M có thời gian giao động và kéo dài nhất.
13. Sự phân bào amitosis dẫn đến tạo tế bào đa bội.
14. Sự phân bào endomitosis tạo nên các thể nhiễm sắc đa sợi.
15. Đa bội cùng nguồn là do endomitosis tạo nên.
16. Tế bào hồng cầu người có pha S kéo dài nhất.
17. Khi tế bào biểu bì da sinh sản thì chúng có pha G1 kéo dài hơn các tế bào biểu bì da đã biệt hoá thành tế bào sừng.
18. Tế bào nơron 2 tháng sinh sản một lần.
19. Các chủng quần tế bào trong cơ thể người có pha G1 không như nhau là do cơ chế điều chỉnh chu kỳ.
20. Giữa pha G1 và pha S có điểm chốt R để kiểm tra sự chuyển từ G1 sang S.
21. Phức hệ protein điều chỉnh chu kỳ là MPF được cấu tạo gồm protein cyclin và protein kinaza.
22. Cyclin là phần có hoạt tính enzim còn kinaza là phần điều chỉnh.
23. Mỗi một pha của chu kỳ có phức hệ cyclin - kinaza riêng.
24. Trong pha G0 tế bào tổng hợp nhiều cyclin và kinaza.
25. Mỗi một pha đều tạo tiền đề cho sự thực hiện các quá trình của pha tiếp.
26. Nếu sự tái bản ADN chưa xong, tế bào vẫn đi vào phân bào.
21. Nếu sự chưa hình thành thoi phân bào và nhiễm sắc thể chưa xoắn và đông đặc thì tế bào không vượt qua G2 vào M.
28. Nếu tế bào gan trưởng thành luôn luôn phân bào sẽ dẫn tới ung thư gan.

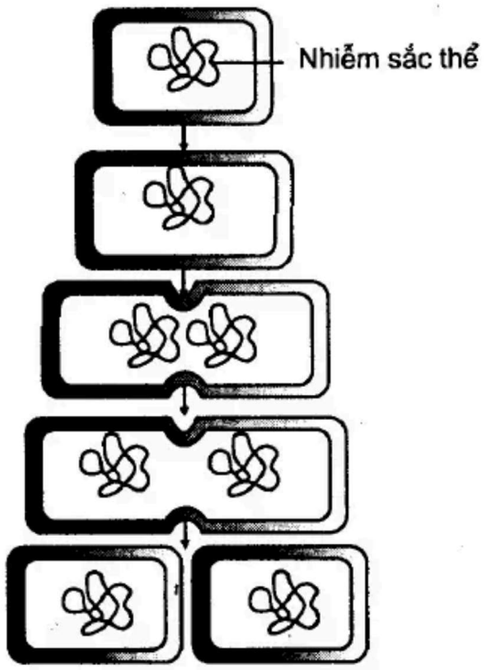
Chương IX

SỰ PHÂN BÀO

I- PHÂN BÀO Ở TẾ BÀO NHÂN SƠ VÀ TẾ BÀO NHÂN CHUẨN

1.1. Phân đôi ở tế bào nhân sơ

Tế bào nhân sơ, ví dụ, vi khuẩn chưa có nhân, chúng phân bào bằng cách *phân đôi trực tiếp* (binary fission), không hình thành thoi phân bào như ở tế bào nhân chuẩn. Chu kỳ tế bào ở vi khuẩn rất đơn giản gồm thời kỳ sinh trưởng qua đó tế bào tổng hợp các chất và tăng lên về kích thước, phân tử ADN được nhân đôi và được chia đôi bám vào mezoxom đồng thời với sự chia đôi tế bào chất thành hai tế bào con (hình 9.1) Một chu kỳ sinh trưởng và sinh sản như thế kéo dài khoảng 20-40 phút.



Hình 9.1. *Phân đôi ở tế bào nhân sơ (E.coli)*

Nhiễm sắc thể của chúng chỉ là phân tử ADN trần có dạng vòng định vị trong tế bào chất và thường bám vào màng sinh chất ở phần được gọi là mezoxom (phần biến đổi gấp nếp của màng sinh chất).

1.2. Phân bào ở tế bào nhân chuẩn

Tế bào nhân chuẩn có nhân chứa nhiễm sắc thể. Nhiễm sắc thể có cấu trúc phức tạp gồm ADN liên kết với protein histon tạo thành các sợi nhiễm sắc (chromonema). Trong gian kỳ, các sợi nhiễm sắc ở trạng thái giãn xoắn được gọi là chất nhiễm sắc (chromatine), và khi phân bào chúng ở trạng thái xoắn và co ngắn lại tạo thành các thể có hình dạng nhất định được gọi là nhiễm sắc thể (chromosome). Mỗi

nhiễm sắc thể chứa một phân tử ADN xoắn kép dạng thẳng. Qua pha S của gian kỳ, ADN được tái bản và nhiễm sắc thể được nhân đôi tạo thành 2 nhiễm sắc tử đính với nhau ở trung tiết (được gọi là nhiễm sắc tử chị em-sister chromatides). Vì nhiễm sắc thể có cấu trúc phức tạp, nằm trong nhân có màng nhân, nên đối với tế bào nhân chuẩn, phương thức phân bào diễn ra phức tạp và đòi hỏi phải có bộ máy phân bào (thoi phân bào). Người ta phân biệt hai phương thức phân bào là: *phân bào nguyên nhiễm* (nguyên phân - mitosis) và *phân bào giảm nhiễm* (giảm phân - meiosis).

Ngoài ra người ta còn quan sát thấy dạng phân bào được gọi là *trực phân* (amitosis) và *nội phân* (endomitosis) là các biến thể của nguyên phân. Dạng phân bào trực phân đặc trưng cho các tế bào đã biệt hoá cao, các tế bào bệnh lý, các tế bào bị tác hại đang đi vào quá trình thoái hoá.

Trong trực phân, nhân được phân đôi một cách đơn giản, không xuất hiện nhiễm sắc thể và thoi phân bào (vì vậy còn được gọi là phân bào không tơ - amitosis); nhiều khi nhân phân thành hai nửa không đều nhau, hoặc phân thành nhiều mảnh, mọc chồi (trực phân bệnh lý hoặc bị tác hại). Tế bào chất có thể được phân đôi cùng với nhân hoặc không phân chia tạo thành tế bào hai nhân hoặc đa nhân (ví dụ tế bào gan).

Nội phân (endomitosis) là một dạng biến đổi của nguyên phân, trong đó ADN và nhiễm sắc thể được nhân đôi nhưng không phân chia về các tế bào con mà ở lại trong tế bào, do đó tạo thành tế bào *đa bội* (polyploide) có số nhiễm sắc thể tăng cao nhiều lần. Trong trường hợp các sợi nhiễm sắc được nhân đôi nhiều lần (do nhân đôi của ADN) nhưng số lượng nhiễm sắc thể không đổi sẽ dẫn đến hiện tượng đa sợi (politenisation), và tạo nên *nhiễm sắc thể đa sợi* (politen chromosome) quan sát thấy ở nhiều bọn sâu bọ, ví dụ, ruồi quả.

II- PHÂN BÀO NGUYÊN NHIỄM

2.1. Đặc điểm của phân bào nguyên nhiễm

Phân bào nguyên nhiễm còn gọi là gián phân, hoặc phân bào có tơ (tên gọi trước đây để phân biệt với dạng phân bào trực phân hay là phân bào không tơ là dạng phân bào bệnh lý không xuất hiện thể nhiễm sắc và thoi), là dạng phân bào phổ biến cho tất cả các dạng tế bào nhân thật có những đặc điểm sau đây:

– Phân bào nguyên nhiễm là dạng phân bào phổ biến ở Eucaryota.

– Kết quả của phân bào hình thành 2 tế bào con có chứa số lượng nhiễm sắc thể giữ nguyên như tế bào mẹ (cho nên có tên là phân bào nguyên nhiễm).

– Xuất hiện nhiễm sắc thể và phân chia nhiễm sắc thể về 2 tế bào con.

– Xuất hiện trong tế bào chất bộ máy phân bào, tức là thoi phân bào, có vai trò hướng dẫn các nhiễm sắc thể con di chuyển về 2 cực tế bào.

– Trong tiến trình phân bào, màng nhân và hạch nhân biến mất và lại được tái tạo ở 2 tế bào con.

2.2. Các kỳ của phân bào

Quá trình phân bào diễn ra theo 5 kỳ liên tiếp nhau bắt đầu thời gian tiếp theo pha G2 của gian kỳ và kết thúc khi hình thành 2 tế bào con.

Sự phân nhân (caryokinesis) là tiến trình phân đôi của nhân bao gồm 4 kỳ là kỳ đầu (hay tiền kỳ), kỳ giữa (hay trung kỳ), kỳ sau (hay hậu kỳ) và kỳ cuối (hay mạt kỳ). Còn sự phân tế bào chất (cytokinesis) là tiến trình phân đôi tế bào chất tiếp theo sự phân nhân để chia thành hai tế bào con.

Trên thực tế, trong tế bào sống rất khó phân biệt giới hạn chuyển tiếp giữa các kỳ. Mỗi kỳ được đặc trưng bởi cấu trúc, tập tính của nhiễm sắc thể, bộ máy phân bào, màng nhân, v.v... (hình 9.2).

a) Kỳ đầu (Prophase)

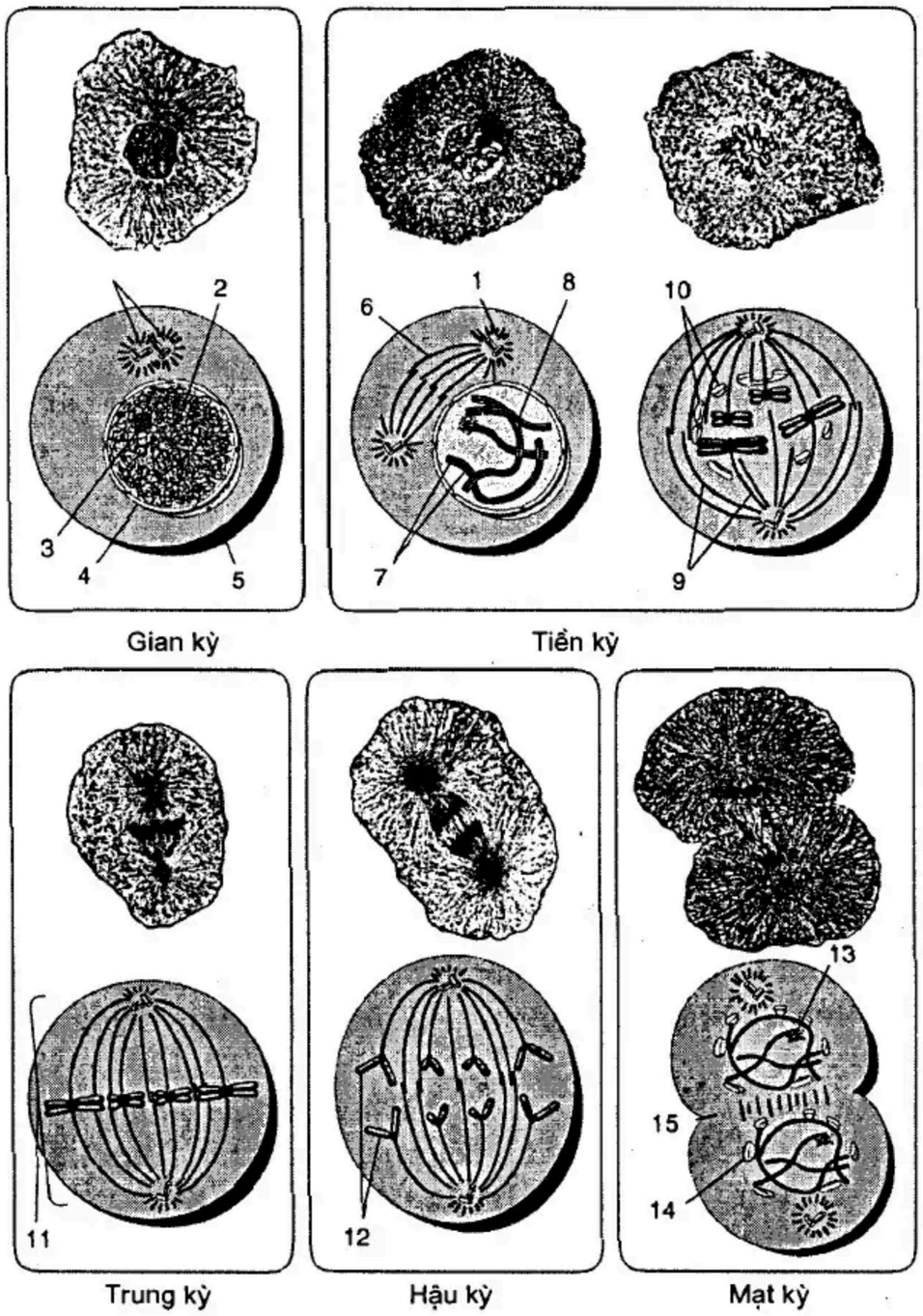
Kỳ đầu được tiếp theo sau pha G2 của gian kỳ. Rất khó phân biệt một cách chính xác điểm chuyển tiếp này, các hiện tượng đặc trưng cho kỳ đầu là:

– Hình thành nhiễm sắc thể: Chất nhiễm sắc ở gian kỳ bao gồm các sợi nhiễm sắc đã được nhân đôi qua pha S tạo thành hai nhiễm sắc tử chị em đính với nhau ở trung tiết, trở nên xoắn và cô đặc lại, hình thành các nhiễm sắc thể kép thấy rõ dưới kính hiển vi thường, có số lượng và hình thái đặc trưng cho loài.

Mỗi một nhiễm sắc thể kép gồm 2 nhiễm sắc tử chị em (sister chromatides) được đính với nhau ở vùng được gọi là trung tiết (centromere). Hai nhiễm sắc tử chị em trong một nhiễm sắc thể kép mà ta thấy rõ ở kỳ đầu chứng tỏ rằng nhiễm sắc thể đã được nhân đôi qua pha S.

– Màng nhân và hạch nhân có nhiều thay đổi: Hạch nhân giảm

thể tích, phân rã và biến mất. Tấm lamina của màng nhân bị phân giải, màng nhân đứt ra thành nhiều đoạn và biến thành các bóng không bào bé phân tán trong tế bào chất, tạo điều kiện cho nhiễm sắc thể di chuyển ra ngoại vi tế bào.



Hình 9.2. *Các kỳ của phân bào nguyên nhiễm*
1. Trung thể gồm 2 đôi trung tử; 2. Chất nhiễm sắc; 3. Hạch nhân; 4. Màng nhân; 5. Màng sinh chất; 6. Thoi; 7. Nhiễm sắc thể kép gồm 2 nhiễm sắc tử chị em; 8. Tâm động; 9. Sợi của thoi; 10. Bóng màng nhân; 11. Thoi ở trung kỳ đính các nhiễm sắc thể kép theo mặt phẳng xích đạo; 12. Nhiễm sắc tử chị em phân ly; 13. Hạch nhân tái tạo; 14. Màng nhân tái tạo; 15. Eo phân bào.

– Hình thành bộ máy phân bào: Như ta đã biết, đa số tế bào động vật có trung thể gồm 2 trung tử (centriole) và vùng quanh trung tử (pericentriole). Qua pha S, trung tử được nhân đôi tạo thành 2 đôi trung tử con. Mỗi đôi trung tử con trở thành trung thể mới. Do sự hoạt hoá của chất quanh trung tử, các đơn hợp tubulin trong tế bào chất trùng hợp hoá thành các vi ống tubulin. Các vi ống xếp phóng xạ quanh trung tử mới, tạo thành sao phân bào (aster). Hai sao di chuyển về 2 cực tế bào. Giữa 2 sao, các vi ống phát triển sắp xếp thành hệ thống sợi có dạng hình thoi được gọi là thoi phân bào. Cấu tạo nên thoi có hai dạng sợi (vi ống) chạy từ sao của cực này đến cực kia. Các vi ống cực (hay sợi cực) chạy liên tục từ cực này đến cực kia, còn các vi ống tâm động (hay sợi tâm động) là các sợi nối với tâm động của nhiễm sắc thể kép. Đến cuối kỳ đầu, khi màng nhân biến mất thì bộ máy thoi có hai sao đã được hình thành.

Như ta đã biết, ở tế bào thực vật không quan sát thấy trung tử, nhưng ở vùng cạnh nhân vẫn có vùng đậm đặc tương tự vùng quanh trung tử và vai trò của chúng là hoạt hoá sự trùng hợp tubulin để tạo thành thoi phân bào ở tế bào thực vật (vì vậy được gọi là phân bào không sao).

b) Kỳ giữa (Metaphase)

Kỳ giữa được bắt đầu khi màng nhân tiêu biến thành các bóng nhỏ phân tán trong tế bào chất quanh thoi phân bào. Thoi phân bào được hình thành lúc đầu ở vùng cạnh màng nhân, khi màng nhân biến mất thì nó di chuyển chiếm ngay vị trí trung tâm. Các nhiễm sắc thể kép mang trung tiết (centromere) là nơi đính 2 nhiễm sắc tử. Trung tiết phân hoá thành tâm động (kinetochore) có cấu tạo gồm trung tiết ở giữa và 2 tấm protein 2 bên kẹp lấy trung tiết (có kích thước khoảng 1μm) và đính với các sợi tâm động của thoi. Qua tâm động, nhiễm sắc thể kép đính với các sợi tâm động của thoi. Các nhiễm sắc thể kép xếp trên mặt phẳng xích đạo nằm thẳng góc với trục của thoi tạo nên cái gọi là tấm trung kỳ. Mặt phẳng xích đạo cắt giữa hai nhiễm sắc tử chị em của nhiễm sắc thể kép.

c) Kỳ sau (Anaphase)

Đặc điểm của kỳ sau là sự tách đôi của 2 nhiễm sắc tử chị em khỏi nhau và trở thành nhiễm sắc thể con độc lập, sự tách của 2 nhiễm sắc tử chị em là do sự tách rời của 2 trung tiết. Mỗi nhiễm sắc tử mang một trung tiết riêng và 2 trung tiết đính với nhau nhờ

protein cohesin. Bước vào kỳ sau, cohesin bị phân giải và 2 trung tiết tách khỏi nhau, mỗi nhiễm sắc tử có một tâm động riêng đính với sợi tâm động. Tất cả các nhiễm sắc tử chị em cùng tách khỏi nhau trở thành nhiễm sắc thể con và cùng thời gian di chuyển về hai cực nhờ sự co ngắn của sợi tâm động (do sự giải trùng hợp của vi ống tubulin) phối hợp với sự kéo dài của các sợi cực và hẹp lại của thoi. Người ta đã tính được tốc độ di chuyển về cực của nhiễm sắc thể con (khoảng 1μm trong 1 phút).

d) Kỳ cuối (Telophase)

Trong kỳ này các nhiễm sắc thể con đã di chuyển tới hai cực, giãn xoắn, dài ra và biến dạng trở thành chất nhiễm sắc. Thoi phân bào biến mất, đồng thời hình thành màng nhân bao quanh chất nhiễm sắc. Hạch nhân được tái tạo và 2 nhân con được hình thành trong khối tế bào chất chung.

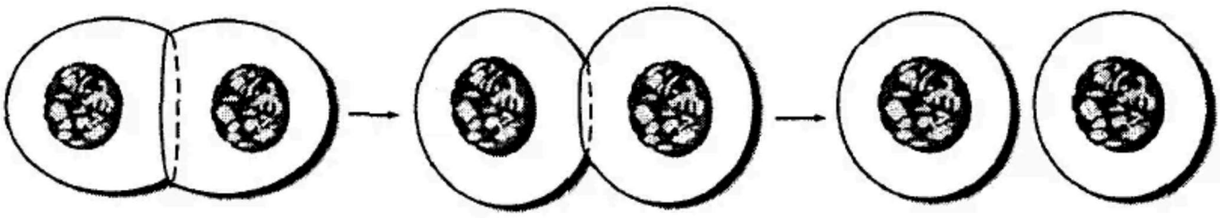
e) Phân tế bào chất (Cytokinesis)

Sự phân tế bào chất được bắt đầu từ cuối kỳ sau hoặc đầu kỳ cuối và diễn ra suốt kỳ cuối. Ở tế bào động vật, sự phân tế bào chất được bắt đầu bởi sự hình thành một eo thắt (ở vùng xích đạo ở vùng giữa tế bào). Sự hình thành eo thắt và lõm sâu của eo tiến tới cắt đôi tế bào chất là do sự hình thành một vòng co rút ở vùng xích đạo được cấu tạo bởi vi sợi actin. Khi vòng sợi actin co rút kéo theo phần màng sinh chất lõm thắt vào trung tâm, và khi màng nối với nhau sẽ phân tách tế bào chất thành 2 nửa, mỗi nửa chứa 1 nhân con (hình 9.3a). Mặt phẳng phân cắt tế bào chất thẳng góc với trục của thoi phân bào.

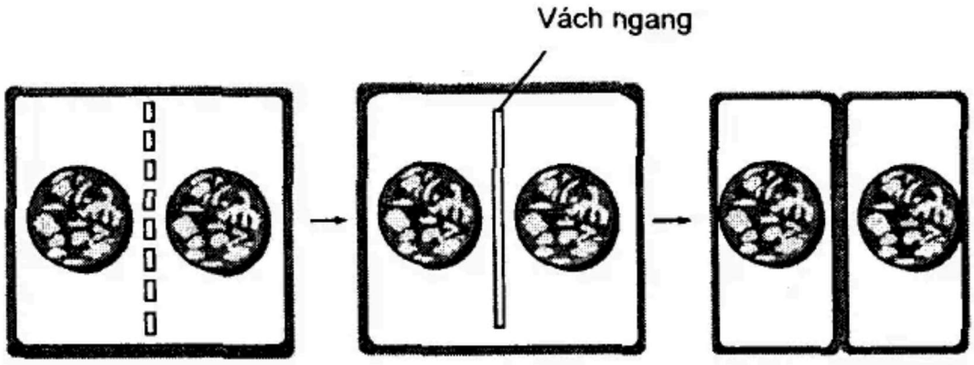
Đối với tế bào thực vật được bao bởi thành vỏ xenlulozơ làm cho tế bào không vận động được nên sự phân tế bào chất xảy ra khác với tế bào động vật. Sự phân tế bào chất ở tế bào thực vật được bắt đầu bằng sự xuất hiện một vách ngang ở vùng trung tâm xích đạo, vách ngang phát triển dần ra ngoại vi cho đến khi liên kết với vách bao tế bào, và như vậy phân tách tế bào chất thành 2 nửa chứa nhân con (hình 9.3b). Trên vách ngang phân tách 2 tế bào con phát triển hệ thống cầu nối tế bào chất tạo thành cấu trúc plasmodesma đặc trưng cho tế bào thực vật. Tham gia vào sự tạo thành vách ngang có phức hệ Golgi, mạng lưới nội chất và vi ống cực của thoi còn tồn dư lại ở vùng xích đạo.

Ở kỳ sau, các bào quan như ty thể, lục lạp, mạng lưới nội chất

v.v... được phân về 2 tế bào con. Nói chung trong thời kỳ phân bào, các hoạt động tổng hợp chất, hoạt động sinh lý của tế bào bị đình chỉ hoặc giảm bớt nhằm phục vụ cho sự phân bào.



a) Tế bào động vật



b) Tế bào thực vật

Hình 9.3. Phân tế bào chất ở động vật (a) và ở thực vật (b)

2.3. Thời gian của các kỳ và sự điều chỉnh phân bào

Trong cơ thể đa bào, các quần thể tế bào luôn được đổi mới, nhờ tế bào gốc duy trì một nhịp điệu phân bào ổn định. Bình thường đối với động vật có vú, chu kỳ tế bào kéo dài từ 10 giờ đến 20 giờ thì thời gian phân bào kéo dài khoảng 1 giờ. Tuy nhiên thời gian của M không phụ thuộc vào thời gian của chu kỳ. Thời gian của chu kỳ có thể dài hơn nhiều nhưng thời gian của M tương đối ổn định.

Kỳ đầu thường kéo dài từ 10 đến 15 phút, kỳ giữa kéo dài từ 25 đến 30 phút. Thời gian của kỳ sau là ngắn nhất, chỉ kéo dài từ 5 đến 8 phút, còn kỳ cuối diễn ra trong khoảng 20 đến 25 phút.

Để xác định nhịp điệu phân bào của một chủng quần tế bào, người ta xác định chỉ số phân bào hay chỉ số mitos (mitotic index). Chỉ số mitos được tính bằng số phần nghìn của số tế bào đang phân bào (tổng cộng số tế bào ở các kỳ phân bào) trên 1000 tế bào quan sát được với kính hiển vi thường.

Thật ra, để tính toán xác định được thời gian của các pha trong chu kỳ tế bào không phải là một việc đơn giản. Với phương pháp đánh dấu phóng xạ và máy phân tích huỳnh quang tự động, người ta đã xác định được tương đối thời gian của các pha trong chu kỳ tế bào ở một số chủng quần tế bào được nghiên cứu, đặc biệt là ở động vật có vú mà ta đã nêu ở các phần trên đây. Chắc chắn rằng, ở các dạng tế bào biệt hóa khác nhau, ở các chủng quần tế bào khác nhau, dưới ảnh hưởng của các nhân tố điều chỉnh khác nhau, chu kỳ sống và nhịp điệu phân bào của chúng biến đổi rất linh hoạt, rất khác nhau.

Khi đề cập đến các nhân tố kiểm tra sự phân bào, người ta thấy một nhân tố quyết định là tế bào phải trải qua pha S, nghĩa là ADN và nhiễm sắc thể phải được nhân đôi: tế bào ở pha G1 muốn đi vào pha S phải vượt qua điểm R ở cuối pha G1. Như vậy sự điều chỉnh phân bào phụ thuộc vào sự điều chỉnh chu kỳ tế bào nói chung, trong đó có rất nhiều nhân tố nội bào và ngoại bào tham gia, đặc biệt là hệ protein cyclin và kinaza (xem phần điều chỉnh chu kỳ tế bào).

Vượt qua pha G2 cũng là điều kiện cần cho sự phân bào, vì trong pha G2, tế bào tổng hợp các protein cần thiết cho sự phân bào, đặc biệt sự trùng hợp hoá các tubulin để tạo thành vi ống. Chất ức chế trung kỳ colchicin ức chế sự trùng hợp các vi ống, do đó ức chế sự tạo thoi phân bào và tế bào dừng lại ở kỳ giữa. Sự chuyển tiếp từ pha G2 vào pha M còn tuỳ thuộc vào protein là cyclin B, có tác dụng hoạt hoá kinaza, tạo điều kiện cho việc hình thành thoi và sự tiêu biến màng nhân.

Người ta đã phát hiện nhiều nhân tố ức chế sự phân bào: nó có thể là hoá chất hóa học, hoặc các bức xạ có tác động trực tiếp, hoặc gián tiếp lên sự phân bào; có thể tác động lên sự tái bản ADN, lên sự tạo thành thoi, lên nhiễm sắc thể hoặc lên sự phân tế bào chất. Các chất kháng sinh, ví dụ actinomycin D, daunomycin, nogalomycin có tác dụng liên kết với AND, do đó ức chế sự tổng hợp ADN. Các chất cycloheximid, puromycin ức chế sự tổng hợp protein bằng cách tác động lên riboxom. Streptomycin ức chế tế bào ở pha G2. Các chất chống chuyển hoá (antimetabolite) chất alkylant, các thuốc nhuộm đều có tác động ức chế, hoặc làm sai lệch sự tái bản ADN, dẫn đến ức chế phân bào.

Các chất có nguồn gốc thực vật như colchicin, colcemid, podophylin, vinblastin v.v... đều có tác dụng ức chế sự tạo thành thoi phân bào, tế bào dừng lại ở kỳ giữa, do đó tạo thành các nhân đa bội. Nhiều chất

có tác động lên nhiễm sắc thể làm đứt gãy nhiễm sắc thể, hoặc phân ly không chính xác về 2 cực, ví dụ, các chất yperit, các bức xạ ion hoá v.v... lithium, cysteamin, cytochalasin ức chế sự phân tế bào chất dẫn đến tạo thành tế bào đa nhân.

III- PHÂN BÀO GIẢM NHIỄM

3.1. Sinh sản vô tính và sinh sản hữu tính

a) Sinh sản vô tính

Sinh sản vô tính đặc trưng cho các vi khuẩn, các động vật đơn bào, nhiều loài thực vật và động vật. Các hình thức sinh sản vô tính tuy đa dạng như phân đôi, nảy chồi, tái sinh từ các bộ phận cơ thể v.v... nhưng đều có cơ sở là hiện tượng phân bào nguyên nhiễm, qua đó một cơ thể mẹ (hoặc tế bào mẹ) sinh ra những cơ thể con (hoặc tế bào con) giống mẹ về mặt di truyền. Trong cơ thể đa bào như thực vật và động vật, các mô tăng trưởng và đổi mới nhờ sự sinh sản vô tính của tế bào (phân bào nguyên nhiễm). Sự sinh đôi cùng trứng ở người có thể xem là một hình thức sinh sản vô tính, vì một trứng được thụ tinh có bộ nhiễm sắc thể 2n qua phân bào nguyên nhiễm cho ra tế bào con (2 phôi bào) giống nhau và từ mỗi tế bào con này phát triển thành cơ thể riêng biệt giống hệt nhau về mặt di truyền.

Sinh sản vô tính là phương thức sinh sản đơn giản, cho phép tăng nhanh số lượng cá thể trong môi trường sống nhất định, nhưng đặc tính di truyền không được thay đổi qua nhiều thế hệ, điều đó không tạo nên đa dạng di truyền cho chọn lọc tự nhiên.

b) Sinh sản hữu tính

Sự xuất hiện sinh sản hữu tính là bước tiến hoá lớn của sinh vật. Nó đảm bảo cho sự xuất hiện đa dạng di truyền bằng cách tổ hợp hai genom của 2 cá thể trong loài vào một cá thể mới, đồng thời qua các thế hệ sinh sản hữu tính tái tổ hợp lại genom của các cá thể thế hệ tiếp theo.

Trong sinh sản hữu tính xảy ra sự xen kẽ thế hệ đơn bội và lưỡng bội. Phân bào giảm nhiễm bảo đảm cho sự hình thành thế hệ tế bào đơn bội (các giao tử) và qua thụ tinh, 2 tế bào đơn bội hòa hợp với nhau tạo thành hợp tử lưỡng bội; và đối với cơ thể đa bào, hợp tử lưỡng bội phát triển thành cơ thể. Phương thức sinh sản hữu tính đơn

giản xuất hiện ở một số vi khuẩn, động vật đơn bào, tảo v.v... Ở động vật và thực vật bậc cao, hình thức sinh sản hữu tính phức tạp hơn nhiều, đòi hỏi sự phân hóa giới tính ở cơ thể bố mẹ, có cơ quan sinh sản chứa các tế bào sinh dục. Thông qua phân bào giảm nhiễm tạo thành các giao tử đực và cái. Tuy ở các loài khác nhau, chu kỳ sinh sản diễn ra khác nhau nhưng cơ chế và bản chất của phân bào giảm nhiễm diễn ra giống nhau theo một sơ đồ chung.

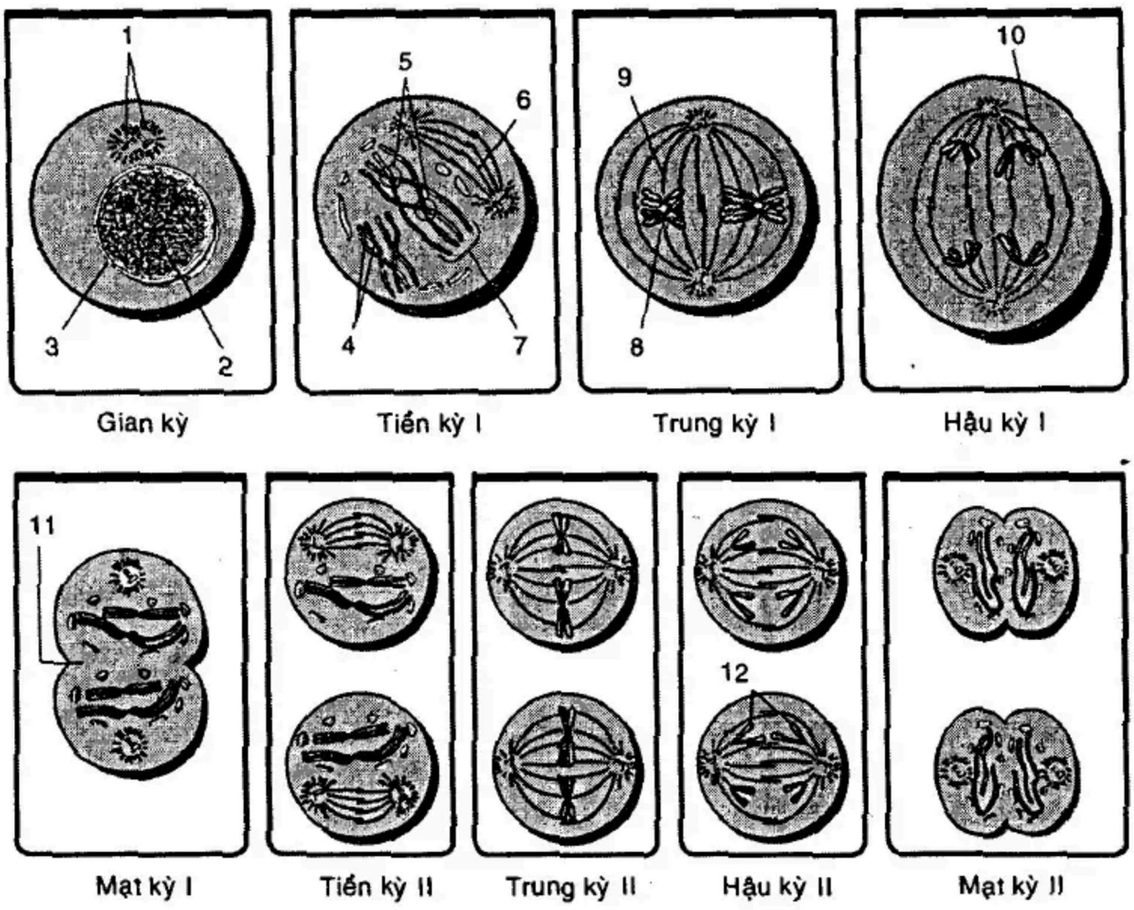
3.2. Sơ đồ chung của phân bào giảm nhiễm

Phân bào giảm nhiễm (Meiosis) do T. Boveri phát hiện lần đầu tiên vào năm 1887, nhưng mãi đến những năm 30-40 của thế kỷ XX các nhà tế bào học và di truyền học mới làm sáng tỏ vai trò quan trọng của chúng.

Qua phân bào giảm nhiễm, các tế bào con có số lượng thể nhiễm sắc giảm đi 1/2 so với tế bào mẹ (do từ meio là 1/2).

Phân bào giảm nhiễm gồm 2 lần phân bào diễn ra theo sơ đồ (hình 9.4).

<table>
<tr><td rowspan="9">MEIOSIS</td><td rowspan="5">Meiosis I</td><td>Kỳ đầu I</td><td>Leptonema
Zygonema
Pachinema
Diplonema
Diakinesis</td></tr>
<tr><td>Kỳ giữa I</td><td rowspan="8"></td></tr>
<tr><td>Kỳ sau I</td></tr>
<tr><td>Kỳ cuối I</td></tr>
<tr><td>Kỳ chuyển tiếp
(Interkinesis)</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Meiosis II</td><td>Kỳ đầu II</td></tr>
<tr><td>Kỳ giữa II</td></tr>
<tr><td>Kỳ sau II</td></tr>
<tr><td>Kỳ cuối II</td></tr>
</table>



Hình 9.4. *Các kỳ của phân bào giảm nhiễm*
1. Trung thể với 2 đôi trung tử; 2. Chất nhiễm sắc; 3. Màng nhân; 4. Nhiễm sắc thể kép gồm 2 nhiễm sắc tử chị em; 5. Bắt chéo (chiasma); 6. Thoi; 7. Tứ tử (lưỡng trị); 8. Tâm động; 9. Sợi tâm động của thoi; 10. Nhiễm sắc thể kép gồm 2 nhiễm sắc tử chị em; 11. Eo phân bào; 12. Nhiễm sắc tử chị em phân ly khỏi nhau đi về 2 cực.

a) Phân bào giảm nhiễm I

Phân bào giảm nhiễm I được gọi là lần phân bào giảm nhiễm thực thụ vì qua lần phân I, hai tế bào con được tạo thành có số lượng thể nhiễm sắc đơn bội kép, còn lần phân II được gọi là phân cân bằng diễn ra giống mitosis, trong đó một tế bào đơn bội kép phân chia thành hai tế bào đơn bội (các giao tử).

Phân bào giảm nhiễm I có thời gian kéo dài và rất phức tạp, đặc biệt là kỳ đầu I có thể kéo dài tới hàng ngày, hàng tháng thậm chí hàng năm.

Kỳ đầu I được phân thành 5 giai đoạn tùy theo tập tính của nhiễm sắc thể:

1) Giai đoạn bó hoa (Leptonema): Xuất hiện các sợi nhiễm sắc

xoắn, co ngắn có mang trung tiết, sắp xếp định hướng thành hình bó hoa và đính vào màng nhân.

2) Giai đoạn tiếp hợp (Zygonema): Sự sắp xếp có định hướng của các sợi nhiễm sắc tạo điều kiện cho sự tiếp hợp cặp đôi của cặp nhiễm sắc thể tương đồng. Cặp nhiễm sắc thể tương đồng là cặp gồm một chiếc có nguồn gốc từ bố và một chiếc có nguồn gốc từ mẹ. Sự tiếp hợp của các cặp tương đồng xảy ra rất chính xác: mỗi trung tiết tiếp hợp tương ứng với nhau, các vế tiếp hợp tương ứng trong đó các gen tiếp hợp tương ứng với nhau. Sự tiếp hợp tương ứng, chính xác này chuẩn bị cho sự trao đổi chéo xảy ra ở giai đoạn tiếp theo.

3) Giai đoạn trao đổi chéo (Pachinema): Được đặc trưng bởi hiện tượng trao đổi chéo (crossing over) giữa 2 nhiễm sắc thể trong cặp tương đồng. Mỗi nhiễm sắc thể lúc này gồm 2 nhiễm sắc tử chị em đính với nhau qua trung tiết (đã được nhân đôi qua pha S của gian kỳ).

Như vậy một cặp tiếp hợp gồm 2 nhiễm sắc thể tương đồng được gọi là lưỡng trị (bivalent), nhưng vì một nhiễm sắc thể lại gồm 2 nhiễm sắc tử chị em nên còn được gọi là tứ tử (tetrad). *Sự trao đổi chéo xảy ra giữa các nhiễm sắc tử không phải là chị em của cặp tương đồng*. Qua sự trao đổi chéo, các nhiễm sắc tử không phải chị em trao đổi các đoạn cho nhau - tức là trao đổi gen cho nhau giữa nhiễm sắc thể bố và mẹ, là quá trình được gọi là tái tổ hợp di truyền (genetic recombination).

Sự tiếp hợp (synapsis) và sự trao đổi chéo xảy ra là nhờ sự tạo thành phức hệ tiếp hợp (synapsis complex) ngay từ giai đoạn Zygonema. Phức hệ tiếp hợp bao gồm 1 trục protein ở trung tâm và 2 dải protein ở 2 bên dính kết với nhiễm sắc tử. Sự trao đổi chéo xảy ra được là nhờ hoạt động của nút tái tổ hợp (recombination nodule) có cấu trúc hình cầu hoặc ellip, có đường kính khoảng 90nm chứa một tập hợp protein. Ở vùng trao đổi chéo có xảy ra sự tổng hợp bổ sung một số lượng ADN.

Sự trao đổi chéo xảy ra ở đoạn nào của thể nhiễm sắc sẽ được biểu hiện rõ ở giai đoạn tiếp theo với các dạng bắt chéo (chiasma) khi các nhiễm sắc thể trong cặp tương đồng tách khỏi nhau.

Giai đoạn Pachinema có thể kéo dài hàng ngày.

4) Giai đoạn sợi đôi (Diplonema): Đặc trưng bởi sự phân ly của các cặp tương đồng. Phức hệ tiếp hợp biến mất. Hai thành viên của cặp tương đồng trong lưỡng trị tách khỏi nhau, tuy nhiên chúng vẫn còn dính nhau ở một vài điểm được gọi là điểm chéo (chiasma). Điểm chéo chính là vùng mà ở đó 2 nhiễm sắc thể tương đồng trao đổi gen

cho nhau. Trong noãn bào (oocyte), giai đoạn diplonema có thể kéo dài đến hàng tháng hoặc hàng năm, vì lẽ rằng ở giai đoạn này nhiễm sắc thể giãn xoắn, tạo nên dạng nhiễm sắc thể đặc biệt được gọi là nhiễm sắc thể chổi bóng đèn (lampbrush chromosome) có vai trò tổng hợp ARN, và từ đó tổng hợp các chất dinh dưỡng cần thiết để tạo noãn hoàng cho trứng trong giai đoạn sinh trưởng.

5) Giai đoạn sợi xoắn (Diakinesis): Đặc trưng của giai đoạn này là các thể nhiễm sắc ngừng tổng hợp ARN, xoắn lại và cô đặc, dày lên. Trong mỗi nhóm tứ tử ta thấy rõ 4 nhiễm sắc tử: trong đó 2 nhiễm sắc tử chị em vẫn đính với nhau qua trung tiết, còn các nhiễm sắc tử không phải chị em có trao đổi chéo thì dính với nhau qua điểm chéo. Điểm chéo là bằng chứng về tế bào học của hiện tượng trao đổi chéo và hoán vị gen giữa 2 nhiễm sắc tử không phải chị em của cặp tương đồng. Do sự hình thành các điểm chéo nên ta thấy các dạng khác nhau của các cặp lưỡng trị: dạng chữ X (khi có 1 điểm chéo), dạng O (khi có 2 điểm chéo) và dạng số 8 khi có 3 điểm chéo).

Các nhiễm sắc thể tách khỏi màng nhân. Màng nhân, hạch nhân biến mất. Xuất hiện thoi và sao phận bào. Khi kỳ đầu I kết thúc, tế bào chuyển vào kỳ giữa I, kỳ sau I, kỳ cuối I và phân tế bào chất để hoàn thành phân chia I tạo ra 2 tế bào đơn bội. Sự giảm nhiễm từ 2n kép (với ý nghĩa là 4 nhiễm sắc tử của 2 nhiễm sắc thể tương đồng) thành n kép (với ý nghĩa là 2 nhiễm sắc tử chị em của 1 nhiễm sắc thể bố hoặc mẹ) là do cơ chế sắp xếp ở kỳ giữa I và phân ly ở kỳ sau I của các thành viên trong cặp tương đồng.

Ở kỳ giữa I, mỗi thành viên với 2 nhiễm sắc tử chị em của cặp tương đồng xếp song song với mặt phẳng xích đạo theo cách xếp đối mặt với nhau, trung tiết đính với các sợi của thoi và như vậy cả 2 thành viên xếp thẳng góc với trục của thoi và mỗi thành viên đối mặt với 1 cực. Mặt phẳng xích đạo cắt dọc giữa 2 nhiễm sắc thể tương đồng sẽ là mặt phẳng phân ly ở kỳ sau I.

Ở kỳ sau I, mỗi thành viên của cặp tương đồng với 2 nhiễm sắc tử chị em vẫn đính nhau ở trung tiết sẽ di chuyển về mỗi cực tế bào và qua kỳ cuối I tế bào chất được phân đôi tạo thành 2 tế bào con: trong đó mỗi tế bào con chứa thành viên hoặc chỉ là của bố, hoặc chỉ là của mẹ (nghĩa là mang bộ đơn bội), nhưng mỗi thành viên vẫn có 2 nhiễm sắc tử (vì vậy nên gọi là đơn bội kép), do đó cần có lần phân II để phân chia nhiễm sắc tử chị em về 2 tế bào cháu mang số nhiễm sắc thể đơn bội.

b) Phân bào giảm nhiễm II

Thường thường tiếp theo phân bào I, hai tế bào con trải qua 1 kỳ chuyển tiếp rất ngắn, trong đó không có sự nhân đôi ADN và nhiễm sắc thể, rồi chuyển sang phân bào II.

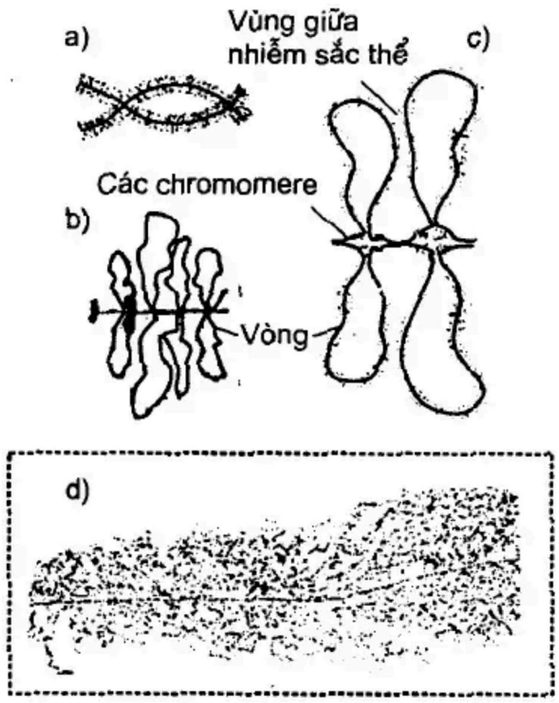
Lần phân bào II cũng trải qua các kỳ: kỳ đầu II, kỳ giữa II, kỳ sau II, kỳ cuối II và phân tế bào chất để tạo thành 2 tế bào cháu mang nhiễm sắc thể đơn bội. Người ta nói lần phân bào II là phân bào cân bằng và nó tương tự với phân bào mitosis vì sự phân ly ở kỳ sau II giống hệt với mitosis, nghĩa các yếu tố phân ly là 2 nhiễm sắc tử chị em tách khỏi nhau và di chuyển về 2 cực theo mặt phẳng cắt dọc giữa 2 nhiễm sắc tử chị em.

So với tiến trình phân bào I thì phân bào II xảy ra nhanh chóng với thời gian chỉ chiếm 1 - 10% của cả tiến trình giảm phân.

Kết quả là qua 2 lần phân bào, từ 1 tế bào chứa 2n kép đã tạo nên 4 tế bào chứa số lượng nhiễm sắc thể đơn bội n, tức là các giao tử.

3.3. Nhiễm sắc thể chổi bóng đèn (lampbrush chromosome)

Khi nghiên cứu phân bào giảm nhiễm của noãn bào ếch ở giai đoạn Diplonema, người ta quan sát thấy dạng nhiễm sắc thể có cấu tạo đặc biệt, được gọi là nhiễm sắc thể chổi bóng đèn. Nhiễm sắc thể chổi bóng đèn có thể đạt tới kích thước d = 20 - 40μm và l = 0,5μm, có cấu trúc giống cái chổi để lau chùi bóng đèn thắp bằng dầu hỏa (nên có tên gọi chổi bóng đèn - lampbrush), hoặc giống cái chổi ống nghiệm. Nhiễm sắc thể gồm 2 sợi trục xếp theo hình số 8 mang các vòng bên mà số lượng đạt tới hàng vạn chiếc. Nếu quan sát dưới kính hiển vi điện tử thì sợi trục gồm 2 sợi nhiễm sắc ở dạng xoắn, còn các vòng bên là các sợi nhiễm sắc mở xoắn (hình 9.5) Trong các vòng



***Hình 9.5.** Nhiễm sắc thể chổi bóng đèn*
a)Cấu tạo hiển vi; b và c) Sợi nhiễm sắc xoắn ở giữa với các vòng bên;
d) Ảnh hiển vi điện tử, các sợi nhiễm sắc mở xoắn tổng hợp ARN

bên mở xoắn, các đơn vị hoạt động của gen đang tích cực tổng hợp nên ARN phục vụ cho việc tổng hợp các chất cần thiết cho sự phát triển của tế bào trứng về sau này.

Nhiễm sắc thể chổi bóng đèn không chỉ được quan sát thấy ở noãn bào của giai đoạn tiền kỳ I ở con cái bọn ếch nhái mà còn quan sát thấy ở cả tinh bào con đực tại giai đoạn tiền kỳ I của rất nhiều nhóm động vật không xương sống như nhuyễn thể, tôm cua, côn trùng, loại nhiễm sắc thể này cũng tìm thấy ở noãn bào cá, lưỡng thê, chim, có vú và người. Người ta cũng tìm thấy nhiễm sắc thể dạng chổi bóng đèn ở cả thực vật bậc thấp và thực vật bậc cao. Điều đó chứng tỏ tổ chức vòng bên của sợi nhiễm sắc (looped domains) được xem như là đơn vị tổ chức của hoạt động gen trong nhiễm sắc thể.

3.4. Vai trò của phân bào giảm nhiễm

a) Phân bào giảm nhiễm tạo giao tử

Khâu tạo thành giao tử mang bộ đơn bội nhiễm sắc thể của quá trình sinh sản hữu tính. Khi 2 giao tử đực và giao tử cái thụ tinh hòa hợp để tạo thành hợp tử, bộ lưỡng bội được khôi phục, do đó bảo đảm sự ổn định bộ nhiễm sắc thể qua các thế hệ nhờ sự luân phiên - phân bào giảm nhiễm (n) - thụ tinh (2n) - phân bào giảm nhiễm (n) - thụ tinh (2n) v.v...

Nếu không có phân bào giảm nhiễm thì theo đà thụ tinh qua các thế hệ, bộ nhiễm sắc thể của loài sẽ tăng từ 2n → 4n → 8n v.v...

b) Ý nghĩa tiến hóa của phân bào giảm nhiễm

Là phối hợp với thụ tinh (tức là sinh sản hữu tính) để tạo nên đa dạng di truyền một cách có quy luật và tất yếu, làm cơ sở cho chọn lọc tự nhiên mở ra những hướng tiến hóa muôn màu muôn vẻ của Eucaryota. Sự đa dạng di truyền có được là do hiện tượng tái tổ hợp di truyền đem lại. Đối với cơ thể đơn bội cũng như tế bào lưỡng bội, sinh sản vô tính bằng phân bào nguyên nhiễm thì qua các thế hệ, genom vẫn giữ nguyên không đổi, nghĩa là không có biến dị di truyền, hoặc có biến dị thì chúng xảy ra ngẫu nhiên (do tác nhân bên trong hoặc do tác nhân môi trường) không theo quy luật, vì vậy ít tạo được đa dạng di truyền, do đó hạn chế sự tiến hóa. Để khắc phục thiếu sót này, ở Procaryota và ở Eucaryota bậc thấp đã xuất hiện hiện tượng tiếp hợp giữa 2 cá thể, qua đó 2 nhiễm sắc thể của 2 cá thể có thể trao đổi gen cho nhau với mục đích đổi mới genom của

mình, tạo ra đa dạng di truyền. Có thể xem đó là hình thức sinh sản hữu tính sơ khai. Sự sinh sản hữu tính tiến hóa theo phương cách phối hợp phân bào giảm nhiễm - bảo đảm điều kiện cho sự trao đổi gen ngay trong cùng một tế bào dòng tế bào sinh dục và thụ tinh - bảo đảm sự tái tổ hợp lại toàn bộ genom của cá thể.

– Sự trao đổi chéo:

Sự trao đổi gen qua phân bào giảm nhiễm giữa 2 cặp nhiễm sắc thể tương đồng bảo đảm sự đổi mới thành phần gen trong từng nhiễm sắc thể của bố và cả của mẹ. Sự trao đổi chéo xảy ra trong giai đoạn tiền kỳ I là nhờ sự tiếp hợp chính xác của 2 nhiễm sắc thể tương đồng nhờ phức hệ tiếp hợp, có sự tổng hợp thêm ADN cần thiết và hoạt động của các protein nhờ SSB protein (protein gây bất ổn định ADN); Rec A protein cũng như các enzim đặc trưng cho quá trình trao đổi gen giữa 2 đoạn ADN tương đồng. Nhờ hiện tượng trao đổi chéo, các giao tử được hình thành qua phân bào giảm nhiễm mang genom khác biệt với genom của thế hệ giao tử trước đó. Số lượng giao tử khác biệt nhau xuất hiện qua meios tùy thuộc vào sự phân ly độc lập của các thành viên trong cặp tương đồng, tức là tùy thuộc vào số đơn bội (n). Ví dụ, nếu n = 2 thì số giao tử khác biệt nhau sẽ là 4; nếu n = 3 thì số giao tử khác biệt sẽ là 8. Khái quát chung, số giao tử khác biệt được tạo thành sẽ bằng 2^n, ví dụ, ở người: n = 23 thì qua meios sẽ tạo ra số lượng giao tử khác biệt nhau là 2^{23}.

– Sự tái tổ hợp lại toàn bộ genom của hợp tử khi thụ tinh:

Khi thụ tinh có sự hòa hợp genom của giao tử đực và giao tử cái tạo thành một genom chung đặc trưng cho cơ thể tương lai. Sự tổ hợp 2 genom này xảy ra một cách tự do và sự đa dạng di truyền của chúng tùy thuộc vào số giao tử tham gia tổ hợp. Nếu n = 2 thì số giao tử khác biệt là 4 và số hợp tử đa dạng sẽ là 4 x 4 = 16. Nếu n = 3 thì số giao tử sẽ là 8 và số hợp tử sẽ là 8 x 8 = 64. Khái quát hóa ta có số nhiễm sắc thể đơn bội là n thì số giao tử khác biệt là 2^n và số hợp tử đa dạng là = 2^n x 2^n. Ví dụ, ở người, số giao tử khác biệt nhau được tạo thành là 2^{23} và số hợp tử đa dạng là 2^{23} x 2^{23}.

III- SO SÁNH PHÂN BÀO GIẢM NHIỄM VÀ PHÂN BÀO NGUYÊN NHIỄM

Ta có thể so sánh sự khác biệt chủ yếu giữa sự phân bào giảm nhiễm và phân bào nguyên nhiễm theo các đặc điểm sau (bảng 9.1).

Bảng 9.1. So sánh Mitisis với Meiosis

Mitosis	Meiosis
- *Đặc trưng cho tất cả các dạng tế bào.*	- Chỉ đặc trưng cho tế bào sinh dục đi vào quá trình chín để tạo giao tử.
- Tế bào con có bộ nhiễm sắc thể như tế bào mẹ (2n → 2n).	- *Tế bào con có bộ nhiễm sắc thể giảm* đi 1/2 (2n → n).
- Gồm 1 lần nhân đôi ADN và nhiễm sắc thể và 1 lần phân chia.	- Phức tạp hơn, gồm 1 lần nhân đôi ADN và nhiễm sắc thể nhưng có 2 lần phân chia: I và II.
- Gian kỳ giữa 2 lần phân bào nguyên nhiễm *có nhân đôi ADN và nhân đôi nhiễm sắc thể.*	- Kỳ chuyển tiếp giữa phân chia I và phân chia II, không có sự nhân đôi ADN và nhiễm sắc thể.
- Kỳ đầu ngắn, không có tiếp hợp và *trao đổi* chéo.	- *Kỳ đầu I kéo dài (hàng tháng, hàng năm), có tiếp hợp và trao đổi chéo giữa 2 nhiễm sắc thể tương đồng.*
- Kỳ sau: yếu tố phân ly về 2 cực là 2 nhiễm sắc tử chị em của 1 nhiễm sắc thể kép, phân ly khỏi nhau, mỗi nhiễm sắc tử đi về một cực.	- Kỳ sau I: yếu tố phân ly là thành viên trong cặp tương đồng. Mỗi thành viên là nhiễm sắc thể bố hoặc mẹ (với 2 nhiễm sắc tử chị em) phân ly khỏi lưỡng trị và di chuyển về 2 cực.
- Phương thức sinh sản vô tính, vẫn giữ *nguyên genom không đổi qua các thế hệ.*	- Phương thức sinh sản hữu tính: bảo đảm khâu tạo thành giao tử. Nhờ tái tổ hợp di truyền tạo nên đa dạng trong genom qua các thế hệ.

CÂU HỎI KIỂM TRA KIẾN THỨC (ĐÚNG, SAI)
(Chương IX. Sự phân bào)

1. PBNN là dạng phân bào chỉ đặc trưng cho tế bào sinh dục chín.
2. Đặc trưng của PBNN là có xuất hiện các cấu trúc sợi như nhiễm sắc thể và thoi phân bào.
3. Qua phân bào nguyên nhiễm các tế bào con có số nhiễm sắc thể giảm đi 1/2.
4. PBNN xảy ra trong pha G1 của chu kỳ tế bào.

5. Ở tiền kỳ ra sự nhân đôi nhiễm sắc thể.
6. Ở trung kỳ màng nhân đã mất và nhiễm sắc thể xếp ở mặt phẳng xích đạo.
7. Ở trung kỳ thấy rõ mỗi nhiễm sắc thể gồm 2 thể nhiễm sắc tử chị em đính với nhau ở tâm động.
8. Tâm động đính với các sợi cực của thoi.
9. Ở hậu kỳ tâm động được nhân đôi và tách khỏi nhau.
10. Ở hậu kỳ các nhiễm sắc tử với tâm động phân ly về 2 cực.
11. Ở mạt kỳ nhiễm sắc thể con càng xoắn càng cô đặc.
12. Ở mạt kỳ tái sinh màng nhân và hạch nhân.
13. Sự phân đôi tế bào ở thực vật nhờ eo thắt.
14. Sự phân đôi tế bào ở động vật nhờ tạo vách ngang.
15. Trong thời gian PBNN sự tổng hợp ADN và protein diễn ra mạnh nhất.
16. Muốn cho cành chiết mau chóng ra rễ người ta phải dùng chất kìm hãm phân bào.
17. PBNN là cơ sở của sinh sản vô tính.
18. PBNN làm cho tế bào bị biến dị di truyền vì làm thay đổi số nhiễm sắc thể trong bộ.
19. Để tính chỉ số phân bào chỉ cần tính số tiền kỳ là đủ.
20. Tế bào hồng cầu gà phân bào mỗi ngày 2 lần.
21. Sinh sản hữu tính chỉ cần 1 cá thể tham gia là đủ.
22. Sự tiếp hợp giữa 2 cá thể paramecium là hình thức Sinh sản hữu tính.
23. Ở nấm men có thể sinh sản vô tính và sinh sản hữu tính.
24. Ở thực vật và động vật pha đơn bội là chủ yếu.
25. PBNN chỉ đặc trưng cho tế bào soma.
26. Qua PBGN các tế bào con là giao tử có số nhiễm sắc thể giảm đi 1/2 ($2n \rightarrow n$).
27. Qua PBGN có 2 lần nhân đôi nhiễm sắc thể và 2 lần phân ly.
28. PBGN là quá trình phức tạp gồm 2 lần phân bào và kéo dài.
29. PBGN I giống PBNN, còn PBGN II là phân bào giảm nhiễm.
30. Qua PBGN I tế bào con vẫn giữ nguyên 2n.
31. Tiền kỳ PBGN I ở người chỉ diễn ra trong 1 giờ.

32. Sự tiếp hợp và trao đổi chéo (hoán vị gen) xảy ở tiền kỳ I ở giai đoạn Zygotena và Pachitena giữa các nhiễm sắc tử không phải chị em.
33. Ở noãn bào qua tiền kỳ I xuất hiện nhiễm sắc thể bóng đèn.
34. Ở trung kỳ I các lưỡng trị (tứ tử) xếp thành 2 hàng ở mặt phẳng xích đạo.
35. Ở hậu kỳ I yếu tố phân ly là nhiễm sắc tử chị em.
36. Ở hậu kỳ II yếu tố phân ly là thành viên cặp tương đồng.
37. Khi thành viên cặp tương đồng phân ly khỏi nhau thì 2 alen tương ứng không phân ly.
38. Nếu 2 gen A và B không alen cùng định khu trong 1 nhiễm sắc thể chúng phân ly độc lập không phụ thuộc.
39. Giao tử được tạo thành chứa n nhiễm sắc thể và khi thụ tinh tạo hợp tử chứa 2n.
40. Ở thực vật có hoa, hạt phấn không có roi và thụ tinh là thụ tinh kép.
41. Ở động vật tinh trùng có đuôi và chứa rất ít tế bào chất.
42. Qua PBGN và qua thụ tinh sẽ tạo ra đa dạng di truyền.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Như Hiền. 2002. *Di truyền và công nghệ tế bào soma*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

2. Nguyễn Như Hiền, Trịnh Xuân Hậu. 2004. *Tế bào học* (in lần thứ 2). Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội. Hà Nội.

3. Nguyễn Như Hiền, Chu Văn Mẫn. 2002. *Sinh học Người*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

4. Nguyễn Như Hiền. 2005. *Sinh học phân tử và tế bào - Cơ sở khoa học của công nghệ sinh học*. Nhà xuất bản Giáo dục. Hà Nội.

5. Nguyễn Như Hiền, Lê Đình Lương, Đái Duy Ban. 2005. *Những phát minh trong khoa học sự sống*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

6. Albert B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J. Watson. 1994. *Molecular Biology of the Cell*. 3d ed. Garland Publishing, Inc. New York.

7. Blanquet S. 1997. *Biologie moleculaire*. Cours de Biologie. Ecole politechnique. Paris.

8. Blaustein M.P., Kao P.Y., Matteson D.R. 2004. *Cellular Physiology*. Elsevier, Inc. USA.

9. Brown T. A. 1999. *Genomes*. John Wiley & Sons, Inc. New York.

10. Campbell N.A., Reece J.B. 2005. *Biology*. 7th ed. Pearson. Benjamin Cummings. New York.

11. Cau P., Seite R. 2002. *Cours de Biologie cellulaire*. 3d ed. Ellipses edition Marketing S.A. Paris.

12. Gilbert S. F. 2000. *Developmental Biology*. 6th ed. Sinauer Associates, Inc.Sunderland, Massachusetts.

13. Hartl D. L., Jones E. W.. 2003. *Genetique. Les grands principes*. (Traduction par E. Dequyer) 3d ed. Dunod. Paris.

14. Hartwell L. H., L. Hood, M. L. Goldberg, A. E. Reynolds, L.

M. Silver, R. C. Veres. 2000. *Genetics. From genes to genomes*. Mc Graw-Hill companies, Inc. New York.

15. Lodish H., D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaria, J. Darnell. 2001. *Molecular Cell Biology*. 5th ed. Scientific American Books. New York.

16. Pasternak J. 2003. *Genetique moleculaire humaine.* (Traduction par D. C. Bensimon). Ed. De Boeck Universite. Paris.

17. Pollard T. D., Earnshaw W. C. 2004. *Cell Biology*. Saunders. An Imprint of Elsevier. Philadelphia.

18. Smith C. A., Wood E. J.. 1999. *Cell Biology*. 2d ed. Chapman & Hall. New York.

19. Snustad D. P., Simons M. J. 2000. *Principles of Genetics*. 2d ed. John Wiley & Sons, Inc. New York.

20. Watson J. D. 1965. *Molecular Biology of the Gene*. New York. Amsterdam.

Chịu trách nhiệm xuất bản:
Chủ tịch HĐQT kiêm Tổng Giám đốc NGÔ TRẦN ÁI
Phó Tổng Giám đốc kiêm Tổng biên tập NGUYỄN QUÝ THAO
Tổ chức bản thảo và chịu trách nhiệm nội dung:
Chủ tịch HĐQT kiêm Giám đốc Công ty cổ phần Sách ĐH-DN
TRẦN NHẬT TÂN

Biên tập và sửa bản in:
NGUYỄN HỒNG ÁNH
Trình bày bìa:
BÙI QUANG TUẤN
Chế bản:
ĐINH XUÂN DŨNG

GIÁO TRÌNH SINH HỌC TẾ BÀO

Mã số : 7K675 M6–DAI

In 1.000 bản, khổ 16 x 24 cm, tại Nhà in Đại học Quốc gia Hà Nội.
Số xuất bản: 155 - 2006/CXB/5 - 250/GD
In xong và nộp lưu chiểu tháng 6 năm 2006.

CÔNG TY CỔ PHẦN SÁCH ĐẠI HỌC - DẠY NGHỀ
HEVOBCO
25 HÀN THUYÊN - HÀ NỘI

TÌM ĐỌC GIÁO TRÌNH DÙNG CHO CÁC TRƯỜNG ĐẠI HỌC, CAO ĐẲNG CỦA NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

1	**Đất ngập nước**	GS. TS. Lê Văn Khoa
2	**Động vật học có xương sống**	GS. TS. Lê Vũ Khôi
3	**Sinh thái học côn trùng**	PGS. TS. Phạm Bình Quyền
4	**Cơ sở hoá sinh**	PGS. TS. Trịnh Lê Hùng
5	**Tài nguyên nước Việt Nam**	Nguyễn Thanh Sơn
6	**Virut học**	PGS. TS. Phạm Văn Ty
7	**Bộ sách về công nghệ sinh học**	
	Tập một : Sinh học phân tử và tế bào - Cơ sở khoa học của công nghệ sinh học	PGS. TS. Nguyễn Như Hiền
	Tập hai : Công nghệ tế bào động vật và thực vật	GS. TS. Vũ Văn Vụ - PGS. TS. Nguyễn Mộng Hùng
	Tập ba : Enzym và ứng dụng	GS. TS. Phạm Thị Trân Châu - TS. Phan Tuấn Nghĩa
	Tập bốn : Công nghệ di truyền	TS. Trịnh Đình Đạt
	Tập năm : Công nghệ sinh học vi sinh và công nghệ môi trường	PGS. TS. Phạm Văn Ty
8	**Cơ sở lý thuyết và kỹ thuật sản xuất thực phẩm**	TS. Nguyễn Xuân Phương - TSKH. Nguyễn Văn Thoa
9	**Di truyền học**	Đỗ Lê Thăng
10	**Sinh học tế bào**	PGS. TS. Nguyễn Như Hiền
11	**Sinh học phân tử tế bào và ứng dụng**	TS. Võ Thị Thương Lan

Bạn đọc có thể tìm mua tại các Công ty Sách - Thiết bị trường học ở địa phương hoặc các Cửa hàng sách của Nhà xuất bản Giáo dục :

**** 25 Hàn Thuyên, 237 Tây Sơn - Hà Nội***
**** 15 Nguyễn Chí Thanh - TP Đà Nẵng***
**** 240 Trần Bình Trọng - Quận 5 - TP. Hồ Chí Minh.***

8 934980 698389

Giá: 27.000đ